PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, A. ERNST-ZÜRICH, H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. SCHUMACHER-BONN, G. TISCHLER-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND OTTO RENNER

37. BAND, 2. HEFT

MIT 27 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 1. SEPTEMBER 1949)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1949

Planta (Berl.)

Preis DMark 22.—

Die Zeitschrift

Planta

Archiv für wissenschaftliche Botanik

steht in deutscher Sprache oder einer der **Kongreßsprachen,** sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden so bald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften; mit 40—50 Bogen wird ein Band abgeschlossen.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DMark 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DMark 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig innerhalb dieses Zeitraumes zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe III. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (13a) *Erlangen, Botanisches Institut der Universität* oder an

Professor Dr. Otto Renner, (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzingerstraße 67.*

Springer-Verlag

Berlin-Charlottenburg 2, Jebensstr. 1, Fernsprecher 32 20 70

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 24 40.

---

37. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 2. Heft

Seite

Voderberg, Käthe, Zur Fruchtkörperbildung von *Coprinus Lagopus* 149

Drawert, Horst, Zellmorphologische und zellphysiologische Studien an Cyanophyceen. I. Mitteilung. Literaturübersicht und Versuche mit *Oscillatoria Borneti* Zukal. Mit 16 Textabbildungen 161

Küster, Ernst, Über Membrangürtel und Protoplasma von *Codium.* Beiträge zur Pathologie der Pflanzenzelle. Mit 11 Textabbildungen . . . 210

Bauer, Leopold, Über den Wanderungsweg fluoreszierender Farbstoffe in den Siebröhren 221

Fischer, Hermann, Plasmolyseform und Mineralsalzgehalt in alternden Blättern. II. Mitteilung 244

Kurze Mitteilung:

Scheerer, Hans, Zur Polyploidie und Genetik der *Veronica*-Gruppe *Pentasepala* 293

Planta, Bd. 37, S. 149—160 (1949).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Greifswald.

ZUR FRUCHTKÖRPERBILDUNG VON COPRINUS LAGOPUS.

Von

KÄTHE VODERBERG.

(Eingegangen am 1. Dezember 1948.)

Wegen ihrer leichten Kultivierbarkeit sind die *Coprini* oft Gegenstand physiologischer Untersuchungen gewesen, ohne daß jedoch alle Fragen bezüglich des Fruchtungsvorganges geklärt worden wären. Es ist nicht bekannt, wodurch das Mycel zur Anlage von Fruchtkörpern angeregt wird, und ebenso wenig ist bekannt, warum nach einer gewissen Fruchtungszeit die Fruchtkörper immer kümmerlicher werden und endlich gar nicht mehr gebildet werden. Diese Fragen finden zwar in der Literatur Beachtung, aber keine Lösung (BREFELDs Erschöpfungstheorie, KLEBs Theorie von der chemischen Umwandlung des Substrates, NIKITINSKYs Theorie der Beeinflussung durch die sich ändernde Azidität). Da in neuerer Zeit als Auslöser biologischer Vorgänge, insbesondere auch der Blütenbildung bei höheren Pflanzen, Wirkstoffe aufgefunden wurden, ist eine Prüfung, ob solche nicht auch die Fruchtkörperbildung auslösen, von besonderem Interesse. Die „Hemmstoffe", die sich vielleicht als Stoffwechselprodukte angehäuft haben, mögen die Fruchtung zum Versiegen bringen. Diese Arbeit versucht, solche Fragen ihrer Klärung näherzubringen.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an *Coprinus lagopus* durchgeführt, der bei konstanter Temperatur in kleinen Gläschen (∅ 2,7 cm, Höhe 3,6 cm) auf Pferdekot kultiviert wurde. Nur zur Prüfung der Abhängigkeit von der Substratmenge wurden auch andersgeformte Schälchen benutzt. Die Kulturgefäße waren in Deckelschalen untergebracht, deren Böden zur Erhaltung hoher Luftfeuchtigkeit wasserbedeckt waren. Die Substrate wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen 20 Min. lang auf 100° erhitzt. Dadurch wurden Mycelien und Pilzsporen abgetötet, nicht jedoch alle Bakteriensporen. Ein gewisser Bewuchs mit Bakterien erschien mir für meine Versuche ohne Bedeutung, stärkere Sterilisation beeinträchtigte die Fruchtkörperbildung. Nach der Erhitzung wurden die Kulturen mit kleinen Fruchtkörperstückchen beimpft, die schnell Mycel bildeten. Ich notierte die Zeit bis zum Beginn der Fruchtkörperbildung und Zahl und Größe der

Fruchtkörper. Als Maß für die Stärke der Fruchtung führte ich den Fruchtungsindex ein, der aus Zahl und Größe der geschossenen Fruchtkörper berechnet wird. Da diese hohl sind, gibt die Mantelfläche des Stieles (die Hutgröße entspricht stets der Stielgröße) ein besseres Bild von der Leistung bei der Fruchtkörperbildung als der Stielinhalt. Deshalb wurde die Summe der Mantelflächen aller Fruchtkörperstiele berechnet. Im allgemeinen wurden 15 Kulturen jeweils unter gleichen Bedingungen gezogen, der Fruchtungsindex stellt den Durchschnittswert der Mantelflächensumme von 15 Kulturen dar[1]. Nicht alle Fruchtkörperanlagen entwickeln sich bis zur Stielstreckung, viele bleiben in den ersten Entwicklungsstadien stehen, als kleine weiße Gebilde (1.—3. Stadium nach BORRISS); haben sie jedoch das 4. Stadium erreicht, das sich in einer Schwarzfärbung des Hutes anzeigt, so entwickeln sie sich bis auf seltene Ausnahmen zu Ende, d. h. sie erreichen auch das 5. Entwicklungsstadium, die plötzliche Stielstreckung von etwa 2 auf 12 cm mit Aufspannen des Hutes und Ausstreuung der Sporen. Gewöhnlich dauert die Fruchtkörperentwicklung vom 1. bis zum 5. Stadium 3—5 Tage.

Abhängigkeit der Fruchtkörperbildung von äußeren Faktoren.

Um Fehldeutungen der Versuchsergebnisse auszuschließen, mußte ich zunächst feststellen, welchen Einfluß kleine Änderungen der äußeren Faktoren auf die Mycel- und Fruchtkörperbildung haben können.

Das *Licht* spielt für das erste Erscheinen von Fruchtkörpern kaum eine Rolle, da das Mycel innerhalb des Substrates lichtgeschützt ist. Dunkelkulturen fruchten im allgemeinen einen Tag früher als Hellkulturen bei sonst gleichen Bedingungen (s. Tabelle 1). Für die Ausbildung der Fruchtkörper und für den Verlauf der weiteren Fruchtung hat das Licht einen so großen Einfluß, daß ich dieser Frage in einer gesonderten Arbeit nachgehen werde. Aber geringe Lichtintensitätsunterschiede, wie sie das gewöhnliche Tageslicht zeigt, sind ohne Bedeutung für die Kulturen. Auch der Tag-Nacht-Wechsel spielt nur eine untergeordnete Rolle, wie schon BORRISS 1934 angibt.

Die *Temperatur* wirkt sich in der üblichen Form aus: das Optimum für das Pilzwachstum und für die Fruchtung liegt bei 20—25°, bei Temperaturen über 30° und solchen unter 10° findet keine Fruchtkörperbildung mehr statt, obwohl sich das Mycel noch schwach entwickelt. Bei Temperaturen von 10—20° verzögert sich das erste Erscheinen von Fruchtkörpern um 1—3 Wochen.

[1] Ausführliche Angaben über die Methodik sind in einer Arbeit „Zur Fruchtkörperbildung und Ernährungsphysiologie von Coprinus lagopus" enthalten, die im Januar 1947 von der Philosophischen Fakultät der Universität Greifswald als Habilitationsschrift angenommen wurde.

Die Luftfeuchtigkeit spielt für das erste Erscheinen von Fruchtkörpern keine Rolle, wenn man nur dafür sorgt, daß die Substratoberfläche nicht antrocknet. Zu große Trockenheit beeinflußt das Weitergedeihen einer Kultur dergestalt, daß zwar die ersten Fruchtkörper noch normal reifen und Sporen ausstreuen, die nächsten jedoch im 3. Entwicklungsstadium vertrocknen und nach 5—8 Tagen keine weiteren Fruchtkörper mehr angelegt werden. Zu große Luftfeuchtigkeit — solche bis zu 100% selbst — schadet den Kulturen niemals.

Auch die *Substratfeuchtigkeit* ist von nicht allzu großer Bedeutung. Normale Pferdeäpfel sind im allgemeinen schwach durchfeuchtet. Sie enthalten nicht so viel Wasser, daß beim Pressen zwischen den Fingern Tropfen austreten. Mit einer mechanischen Presse stellte ich 2 Grade größerer Trockenheit her und beobachtete, daß beim trockensten Mist[1] (50 g Mist, dem 10 g Wasser ausgepreßt wurden) die ersten Fruchtkörperanlagen früher als beim schwächer ausgepreßten Mist (50 g Mist, dem 5 g Wasser ausgepreßt wurden) erschienen. Weitere Feuchtigkeitsgrade stellte ich her, indem ich zu 50 g Mist 5, 10, 15 und 20 g Wasser hinzugab. Im ersten Falle wurde beim Aufdrücken mit dem Finger etwas Wasser sichtbar, im zweiten trat schon ein Tropfen am Fingerrand auf, im dritten troff das Substrat beim Aufdrücken vor Nässe, und im vierten Falle stand das Wasser sichtbar zwischen den Substratpartikeln. Die ersten Fruchtkörper erschienen hier wesentlich später, wie Tabelle 2 zeigt.

Tabelle 1.

Temperatur	Beginn der Fruchtung	
	hell	dunkel
16°	21. Tag	20. Tag
20°	13. Tag	12. Tag
25°	11. Tag	11. Tag
30°	14. Tag	13. Tag

Tabelle 2.

Substrat	Beginn der Fruchtung
50 g Mist — 10 g Wasser	8. Tag
50 g Mist — 5 g Wasser	9. Tag
50 g Mist normal	10. Tag
50 g Mist + 5 g Wasser	16. Tag
50 g Mist + 10 g Wasser	22. Tag
50 g Mist + 15 g Wasser	23. Tag
50 g Mist + 20 g Wasser	23. Tag

Erstaunlich jedoch ist, daß das Mycel sich überhaupt im anstehenden Wasser entwickeln und zur Fruchtkörperbildung reifen kann. Während Weir (1911) für viele andere *Coprini* fand, daß zu große Substratfeuchtigkeit nur vegetatives Wachstum ohne Bildung von Fruchtkörpern bedingt, stellte Stoll (1934) für *Coprinus stercorarius* die gleiche Unempfindlichkeit gegenüber großer Trockenheit und Nässe fest, wie ich für *Coprinus lagopus*. Zu große Trockenheit begrenzt die Fruchtungszeit einer Kultur auf wenige Tage, nach den ersten 2 bis

[1] Unter „Mist" sind stets Pferdeäpfel verstanden.

4 Fruchtkörpern kommen keine weiteren mehr über das dritte Stadium hinaus, und bald werden auch keine neuen Anlagen mehr gebildet.

Coprinus lagopus ist auch gegen Aziditätsschwankungen recht unempfindlich. Er gedeiht sowohl bei $p_H = 4$ als auch bei $p_H = 9$. Jenseits dieser Grenzen ist die Fruchtkörperbildung kümmerlich. Im sauren Medium wird die Fruchtkörperbildung etwas verzögert, Kulturen mit $p_H = 6{,}5$ fruchteten z. B. einmal am 29. Tage, während die unter sonst gleichen Bedingungen gehaltenen Kulturen mit $p_H = 7{,}2$ und 8,5 am 21. und 22. Tage fruchteten. Diese Verzögerung braucht nicht auf dem Säuregrad selbst zu beruhen, sondern kann durch die ihn verursachende andere chemische Zusammensetzung des Substrates bedingt worden sein. Auch auf die weitere Entwicklung der Kulturen hat die Wasserstoffionenkonzentration keinen großen Einfluß. Eine so große Rolle die Wasserstoffionenkonzentration sonst für den Ablauf biologischer Vorgänge spielt, so gering ist ihr Einfluß auf die Ausbildung des *Coprinus*-Mycels und seine Fruchtung. Das setzt um so mehr in Erstaunen, als das natürliche Substrat, der Pferdemist, kaum Schwankungen zeigt, die Pilze von Haus aus also ein fast neutrales Medium gewohnt sind.

Das Ergebnis all dieser Untersuchungen ist für die weitere Arbeit von großer Bedeutung. Zieht man die Pilze bei äußeren Bedingungen, die ihren natürlichen ungefähr gleichkommen, so hat man keine beachtenswerte Beeinflussung der Fruchtung durch diese Außenfaktoren zu fürchten. Durch geringe Unterschiede in der Temperatur, Substratfeuchtigkeit oder im Säuregrad kann man wohl eine Verzögerung des Fruchtungsbeginns um einen Tag erhalten, niemals aber kann man das Ausbleiben der Fruchtkörper solchen Außenfaktoren zuschreiben, wie es bei allen empfindlicheren Mistpilzen der Fall ist, die z. B. bei geringen Feuchtigkeitsverschiebungen ihres Substrates sogleich die Fruchtung abbrechen.

Auslösung der Fruchtkörperbildung.

Zunächst fragen wir, wodurch die Fruchtkörperbildung ausgelöst wird. In den meisten *Coprinus*-Arbeiten (BREFELD, SCHENCK, BORRISS) steht etwa der Satz: „Wenn das Substrat erschöpft ist, d. h. Nahrungsmangel eingetreten, schreitet das Mycel zur Fruchtkörperbildung". BREFELD glaubt ihn durch eine Beobachtung bewiesen, nach der Fruchtkörper sich nicht zu Ende entwickelten, sondern vegetativ auswuchsen, als man ihnen frische Nährlösung zugab.

KLEBS (1900) faßt die Ursache der Fruchtungsauslösung etwas weiter. Er schreibt: „Nach einer gewissen Zeit werden durch den Stoffwechsel des wachsenden Mycels jene Änderungen in der Beschaffenheit des Nährbodens herbeigeführt, die zur Fortpflanzung nötigen",

und an anderer Stelle: „Bei *Coprinus nycthemerus* muß das Licht allein jene Veränderungen des Nährsubstrates herbeiführen, die bei verwandten Arten z. B. *Coprinus lagopus* durch den Stoffwechsel des Mycels selbst bewirkt werden."

Klebs (1896 und 1898) und Falck (1902) messen bei *Sporodinia grandis* auch der Transpiration eine Bedeutung als fruchtungsauslösendem Faktor bei.

Die Klebssche Theorie läßt 2 Deutungen zu: 1. daß die Fruchtung durch einen bestimmten Stoff, der vom Mycel ausgeschieden wird, und den ich „Fruchtungsstoff" nennen will, ausgelöst wird, 2. daß allgemeine Veränderungen in der stofflichen Zusammensetzung des Nährbodens die Fruchtung auslösen.

Es ist auch in Erwägung gezogen worden, daß die Fruchtung nicht durch Veränderungen des Nährbodens sondern durch Veränderungen in den Pilzzellen selber ausgelöst werden könne, durch Erreichen eines bestimmten Reifegrades des Mycels. Diese Annahme wird durch folgende Beobachtungstatsache als ausgeschaltet betrachtet. Überpflanzt man Mycel, kurz bevor Fruchtkörper zu erwarten sind, in frisches Substrat, so unterbleibt die Fruchtkörperbildung. Durch fortgesetztes Umpflanzen kann man die Fruchtkörperbildung beliebig lange — theoretisch ewig — unterdrücken. Brefeld und Borriss führten diese Versuche über Monate hin fort, und ich konnte sie mit dem gleichen Ergebnis verfolgen. Auf dieser Beobachtung baut sich die Erschöpfungstheorie auf. Brefeld glaubte, ein Mycel könne erst dann fruchten, wenn es jeweils das ganze ihm zur Verfügung stehende Substrat durchdrungen und teilweise erschöpft habe.

Um diese Theorie auf ihre Richtigkeit zu prüfen, setzte ich folgende Versuchsreihen an: Zuerst wog ich je 50 g Pferdemist ab und drückte ihn in Schalen mit einem Oberflächendurchmesser von 10, 7,5, 5,5, 3,5, 3 und 2,5 cm und entsprechend steigender Höhe. Von jeder Form wurden 8 Kulturen angesetzt, insgesamt also 48 Kulturen. Ich fand alle diese Kulturen am gleichen Tage fruchtend, in allen Gefäßen zeigten sich die ersten Anlagen am 8. Tage. Dieses Ergebnis steht nicht im Widerspruch zur Erschöpfungstheorie, in gleicher Zeit durchwächst das Mycel die gleiche Substratmenge und kommt deshalb zum gleichen Zeitpunkt zur Fruchtung.

Eine zweite Versuchsreihe ordnete ich so an, daß alle Kulturgefäße die gleiche Höhe zeigten, aber verschieden weit waren, also sehr verschiedene Mengen Substrates enthielten. Aber auch hier kam es in allen Gefäßen am gleichen Tage zur Fruchtung. Es wäre denkbar, daß das Mycel, nachdem es erst einmal eine gewisse Ausdehnung erreicht, sich im Laufe weniger Stunden über eine doppelte bis dreifache

Substratmenge ausbreiten könne, während sein Zuwachs in den ersten Tagen wegen seiner eigenen Kleinheit nur gering sei.

In einer dritten Versuchsreihe prüfte ich, wie sich Kulturen verhielten, die in Gefäßen mit demselben Oberflächendurchmesser, aber verschiedener Höhe wuchsen, also wieder sehr verschiedene Substratmengen zur Verfügung hatten. Auch hier fand ich am gleichen Tage auf allen Gläsern die ersten Anlagen. Dieses Resultat läßt sich mit der Erschöpfungstheorie nur dann noch vereinbaren, wenn wir wie oben eine sehr große Wachstumsgeschwindigkeit des gut entwickelten Mycels annehmen. Es drängt sich nach diesem Versuch aber die Vermutung auf, daß das Mycel auch schon fruchten kann, wenn es noch nicht das gesamte Substrat durchwachsen hat, sondern nur den oberen Teil davon.

Um zu entscheiden, wie schnell sich Mycel ausbreitet, setzte ich Kulturen an, bei denen ich mycelhaltiges Substrat auf den Boden eines hohen Kulturgefäßes einbrachte und es mit frischem Mist überschichtete. Die Kontrollkulturen in gleich hohen Gefäßen wurden dicht unter der Oberfläche mit der gleichen Menge mycelhaltigen Substrates beimpft. Die Kontrollen fruchteten am 10. Tage normal, während die grundständig beimpften Kulturen überraschenderweise am 12. Tage — also nur unwesentlich später — in der untersten, etwa 1,5 cm dicken Mistschicht reichlich Fruchtkörperanlagen zeigten, die jedoch wegen Mangel an Raum nicht ausreifen konnten. Am 17. Tage entstanden hier die ersten Fruchtkörper auf der Oberfläche. Ich beobachtete später häufiger, daß die Fruchtung einer Kultur schichtweise vor sich gehen kann, daß in immer tieferen Schichten sich im Innern der Kultur — durch die Glaswände deutlich sichtbar — Fruchtkörperanlagen ausbildeten. Das Mycel braucht also einen Zeitraum von mehreren Tagen, um das zwei- bis dreifache der gewöhnlich gebotenen Substratmenge zu durchwachsen. Damit fällt die Erklärungsmöglichkeit für die beiden vorigen Versuchsreihen fort. Gleichzeitig sehen wir jetzt deutlich, daß das Mycel bei gleichen Außenbedingungen nach einer bestimmten Zeit fruchtet, ohne Rücksicht darauf, ob dann das ganze dem Mycel zur Verfügung stehende Substrat durchdrungen ist oder nicht. Wenn damit die BREFELDsche Erschöpfungstheorie widerlegt ist, bleibt immerhin die Erklärungsmöglichkeit, daß zur Auslösung der Fruchtkörperbildung ein Fruchtungsstoff in bestimmter Konzentration oder eine sonstige Veränderung des Nährbodens in der nächsten Umgebung des Mycels vorhanden sein muß.

Ein eindeutiger Beweis, ob irgendwelche Stoffwechselprodukte vom Mycel ausgeschieden werden, die in bestimmter Anreicherung die

Auslösung der Fruchtkörperbildung bedingen, kann dadurch erbracht werden, daß man den sterilisierten Saft eben fruchtender Kulturen (als „Fruchtsaft" bezeichnet) ausgepreßtem Frischmist zugibt und dann prüft, ob eine Beschleunigung der ersten Fruchtkörperanlagen durch diese Saftzugabe erzielt wird. Ich setzte eine Reihe solcher Versuche an, doch stets mit negativem Ergebnis. Auf ausgepreßtem Mist, der mit Frischsaft übergossen worden war, fruchteten die Kulturen stets ebensofrüh wie auf solchem, der mit dem Saft aus frisch fruchtenden Kulturen getränkt wurde. (Saft aus älteren Kulturen unterdrückte oder hemmte die Fruchtung.) Tabelle 3 stellt das Protokoll von 6 Versuchsreihen mit je 8 Kulturen dar.

Tabelle 3.

Substrat	Beginn der Fruchtung	Fruchtungsindex
1. Frischmist mit Wasser	18. Tag	11,7
2. Frischmist mit sterilisiertem Fruchtsaft	19. Tag	12,3
3. Sterilisierter Fruchtmist mit Wasser	20. Tag	11,4
4. Sterilisierter Fruchtmist mit Frischsaft	23. Tag	12,5
5. Sterilisierter Fruchtmist mit sterilisiertem Fruchtsaft	23. Tag	11,6
6. Stroh mit Frischsaft	20. Tag	11,9
7. Stroh mit sterilisiertem Fruchtsaft	18. Tag	12,7

Es zeigten sich also kaum Unterschiede, weder in bezug auf den Fruchtungsbeginn noch auf den weiteren Verlauf der Fruchtung. Durch die Angabe, daß die Hemmstoffe, die bei Schimmelpilzen gefunden wurden (Küster 1908), thermolabil seien, zur Vorsicht ermahnt, setzte ich die gleichen Versuche noch einmal an, ohne den Saft aus fruchtenden Kulturen zu sterilisieren. Ich erhielt dabei aber die gleichen Ergebnisse.

Bei den Versuchen, den Fruchtsaft unsterilisiert zu prüfen, setzte ich auch Kulturen an, bei denen ausgepreßter eben fruchtender Mist unsterilisiert mit Leitungswasser, frischem oder Fruchtsaft übergossen wurde. Diese Kulturen wurden nicht neu beimpft, weil sie das Mycel ja noch enthalten mußten, wenn die Fruchtkörper auch zerquetscht worden waren. Es zeigte sich, daß diese Kulturen schon nach 2 Tagen neue Fruchtkörper anlegten, ein Beweis, daß nicht die stoffliche Umwelt des Mycels, sondern das Mycel selber ausschlaggebend für den Fruchtungsbeginn ist.

Daß eine bestimmte Konzentration eines Fruchtungsstoffes nicht nötig ist, geht auch aus der Tatsache hervor, daß eben fruchtende Kulturen unbeeinflußt weiter fruchten, wenn man das Substrat mit Frischsaft oder Wasser verdünnt.

Da der BREFELDsche Versuch zeigt, daß der Reifegrad des Mycels nicht von Bedeutung ist, blieb nur die Annahme, daß es einer bestimmten Myceldichte bedarf, um Fruchtkörper aufzubauen. Diese Annahme läßt sich durch die folgende Versuchsanordnung prüfen. Die Erschöpfungstheorie fußt auf der Tatsache, daß Mycel nicht fruchtet, wenn es in regelmäßigen Abständen in immer neues Substrat verpflanzt wird. Es sind dabei nur kleinere Mycelkomplexe verpflanzt worden, ich vergrößerte die übergeimpfte Substratmenge und fand von einer bestimmten Größe an keine Beeinträchtigung der Fruchtung mehr. Ich setzte kurz vor der Fruchtung stehende Kulturen aus ihren 2,7 × 3,6 cm-Gläschen in ebenso weite, aber viel höhere Gläschen (7 cm hoch) auf Polster von frischem Mist und fand, daß diese Kulturen zum gleichen Zeitpunkt wie die in den alten Gläschen verbliebenen Kulturen fruchteten. Weiter stellte ich den Inhalt meiner 2,7 × 3,6 cm-Gläschen kurz vor der Fruchtung vorsichtig als Ganzes in immer größere Gefäße und hüllte sie in frischen Mist ein. Auch dadurch konnte ich die Fruchtung nicht um einen Tag aufhalten. In wenigen Tagen zeigten sich auf dem frischen Substrat reichlich Fruchtkörper. Jetzt stellte ich die gleichen Frischmistnester wie eben her, legte jedoch nur die halben (5 g Mist), viertel (2,5 g Mist), achtel (1,25 g Mist) Kulturen aus meinen Normalgläschen hinein. Dabei zeigte sich, daß die Viertelkulturen noch unverändert weiter fruchteten, nicht jedoch die Achtelkulturen. Da bei den üblichen Übertragungen von mycelhaltigem Mist in neues Substrat zwecks Beimpfung nur eine geringe Menge verwandt wird, reicht diese nicht aus, um sofort Fruchtkörper weiter auszubilden. Dieses Mycel muß erst wieder heranwachsen bis eine bestimmte Dichte erreicht ist. So erklärt sich zwanglos das Ausbleiben der Fruchtung für eine bestimmte Zeit aus der Annahme, daß für die Fruchtung allein eine bestimmte Mycelmenge nötig ist.

Auch die Ergebnisse folgender Versuchsreihen bestätigten das bisher Gefundene: Ich zog *Coprinus lagopus* in ganz kleinen Kulturgläschen, die nur 1,5 g Mist zu fassen vermochten. In diesen Gefäßen kam es nur selten zur Fruchtung, und dann waren die Fruchtkörper immer klein und kümmerlich. Die Fruchtkörperbildung ist als Gemeinschaftsleistung eines Mycelkomplexes aufzufassen, dem mindestens 1,5 g Nährsubstrat zur Verfügung stehen muß. Ebenso stellten sich auf nährstoffarmen Substraten die ersten Fruchtkörper wesentlich später ein als auf nährstoffreicheren, während es nach der Erschöpfungstheorie umgekehrt hätte sein müssen. Frischer Pferdemist wurde 5—10mal kochend ausgelaugt und mit Fruchtkörperstückchen beimpft. In der Kontrolle (frischer Mist) fruchteten die Kulturen am 10. Tage, im 5mal ausgelaugten am 15. Tage und im 10mal ausgelaugten Mist am 17. Tage. In einer anderen Versuchsreihe fruchteten Kulturen

im ausgelaugten Mist mit Leitungswasser einmal am 23. Tage, während derselbe Mist mit Nährlösung getränkt am 12. Tage schon Fruchtkörper aufwies. Im nährstoffarmen Substrat braucht das Mycel einen viel größeren Zeitraum, um eine solche Dichte zu erreichen, daß es normale Fruchtkörper bilden kann.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang vielleicht die Tatsache, daß der Beginn der Fruchtung von der Menge des übergeimpften Materials abhängt. Kulturen, die mit mehreren Fruchtkörperstückchen beimpft wurden, fruchteten früher als solche, die nur mit einem Stückchen beimpft wurden. Ebenso fruchteten Kulturen, denen ein größeres mycelhaltiges Impfstück eingesenkt worden war, früher als solche mit einem kleineren Mycelstück.

Mit dem Ergebnis, daß eine bestimmte Myceldichte für die Fruchtkörperbildung notwendig ist, wird noch nichts über das Wesen des auslösenden Faktors ausgesagt. Wenn ein Fruchtungsstoff nicht nach außen abgeschieden wird, kann er doch in den Zellen gebildet werden und erst bei einer bestimmten Myceldichte in genügender Konzentration vorhanden wirksam werden. Wie weit Parallelen zu den die generative Phase auslösenden Stoffen höherer Pflanzen vorliegen, bleibt zu prüfen.

Ursache des Fruchtungsendes.

Ebenso wie der Fruchtungsbeginn ist auch das Fruchtungsende von besonderem Interesse. Wenn Kulturen eine gewisse Zeit gefruchtet haben, erscheinen immer seltener Fruchtkörper, diese werden immer kleiner und endlich versiegt die Fruchtung ganz. Die Ursache dieses Aufhörens der Fruchtung ist unbekannt.

Zunächst vermutete ich, daß das Alter des Mycels die Verödung der Kulturen herbeiführen könne. Ich beimpfte deshalb die alten Kulturen mit neuen Fruchtkörperstückchen, jedoch ohne Erfolg. Um auszuschalten, daß das alte Mycelgeflecht die Neuausbreitung hindere, arbeitete ich das Substrat vor der Neubeimpfung gut durch. Aber weder diese Maßnahme noch das Abtöten des alten Mycels durch Sterilisation gewährten dem neuen Mycel bessere Lebensbedingungen, nirgends fand ein Neubewuchs des alten Substrates statt.

Nun war das Nächstliegende anzunehmen, daß eine Erschöpfung des Substrates an Nähr- oder Wirkstoffen schuld an diesem Nachlassen der Fruchtung sei. Ich preßte deshalb diesen Kulturen den Saft ab und ersetzte ihn durch frischen oder durch Nährlösung. Aber es kam zu keiner neuen Fruchtung, auch dann nicht, wenn ich — ohne oder nach einer Sterilisation — neu beimpfte. Der Mangel an Nährstoffen scheint also nicht der ausschlaggebende Faktor bei der Verödung der Kulturen zu sein. Dasselbe gilt für die Wirkstoffe, ein

Hefezusatz blieb ohne Einfluß, gleichgültig, ob die Kulturen vorher sterilisiert und neu beimpft worden waren oder nicht.

Von mehreren Forschern (NIKITINSKY 1904, KÜSTER 1908, BROWN 1923, BOYLE 1924 u. a.) werden für Schimmelpilze und Fungi imperfecti p_H-Verschiebungen, die hauptsächlich als Versäuerung durch die Aufnahme des NH_3 aus anorganischen Ammoniumsalzen entstehen, für das Veröden der Kulturen verantwortlich gemacht. Da *Coprinus lagopus* sehr unempfindlich gegen p_H-Verschiebungen ist, und im natürlichen Substrat, dem gut gepufferten Pferdemist, sich größere p_H-Verschiebungen nicht bemerkbar machen, fällt diese Erklärungsmöglichkeit für das Aufhören der Fruchtung weg. Ich fand verödete Pferdemistkulturen durchweg von neutraler Reaktion.

Jetzt blieb nur noch die Annahme einer Substratzersetzung oder die Bildung eines Stoffwechselproduktes durch das Mycel, das als Hemmstoff wirkt, als Erklärungsmöglichkeit für die Kulturverödung.

Um die Möglichkeit einer vom Mycel unbeeinflußten Substratzersetzung zu prüfen, überließ ich Mist, teils sterilisiert, teils unsterilisiert sich selbst für einige Wochen und Monate, ehe ich ihn mit *Coprinus lagopus*-Mycel beimpfte. Während *Psalliota* erst auf monatelang zersetztem Mist fruchten kann, erscheinen die *Coprinus lagopus*-Fruchtkörper in der Natur vorwiegend auf frischem Mist; daher konnte damit gerechnet werden, daß die Nähr- und Wirkstoffverhältnisse alten Mistes *Coprinus lagopus* nicht zusagen. Ich fand nun, daß *Coprinus lagopus* auf 1—3 Monate altem Mist, der von vielen anderen *Coprini* bewachsen gewesen, dann sterilisiert und mit *Coprinus lagopus*-Fruchtkörperstückchen beimpft worden war, nicht gedieh. Auf 2—4 Wochen altem Mist, der durch gelegentliche kurze Sterilisation ziemlich pilzfrei gehalten worden war, fruchtete *Coprinus lagopus*, wenn auch nicht ganz so gut, wie auf frischem Mist. Dagegen ist die Fruchtkörperbildung wesentlich schlechter auf Mist, der 2—5 Monate lang getrocknet worden war, wegen der Trockenheit keinen Bewuchs von anderen Pilzen gezeigt hatte, dann gut durchfeuchtet und vor der Beimpfung nur kurz sterilisiert worden war. Es bildeten sich nur 1—2 Fruchtkörper in jedem Glas aus, dann waren die Kulturen verödet. Das Alter des Mistes hat also einen Einfluß auf die Güte der Fruchtung. Auch ohne Bewuchs mit *Coprinus lagopus* wird das Mistsubstrat im Laufe der Monate so weit verändert, daß es für ein gutes Gedeihen dieses Pilzes nicht mehr geeignet ist.

Es blieb nun zu prüfen, ob diese Mistzersetzung die einzige Ursache der Kulturverödung sei. Deshalb führte ich ähnliche Versuchsreihen durch wie bei der Prüfung auf einen besonderen Fruchtungsstoff. Daß das Ersetzen des alten Saftes durch frischen keinen Neubewuchs

ermöglichte, führte ich schon an. Tränkte ich ausgepreßten Frischmist mit dem alten Saft, so erhielt ich ebenfalls keine Fruchtung. Und zwar genügen schon wenige Tropfen alten Saftes, um eine eben mit der Fruchtung beginnende, üppige Kultur an weiterer Fruchtung zu hindern. Nur die Annahme eines Hemmstoffes, der schon in geringerer Konzentration, als er in ganz verödeten Kulturen vorhanden ist, die Fruchtung stark beeinträchtigt, kann dieses Verhalten erklären.

Von Küster (1908), Boyle (1924) und Pratt (1924) wurden in Schimmelpilzkulturen hitzeempfindliche Hemmstoffe gefunden. Durch Kochen konnten sie verödete Substrate wieder für neuen Bewuchs geeignet machen. Der Hemmungsfaktor im verödeten *Coprinus lagopus*-Kulturen jedoch läßt sich durch Kochen oder Sterilisieren nicht beseitigen.

Zusammenfassung.

Coprinus lagopus zeigt sich als ein Pilz, der äußeren Faktoren gegenüber ziemlich unempfindlich ist. Die Fruchtung wird weder durch die Temperatur und Feuchtigkeit noch durch die Azidität des Substrates wesentlich beeinflußt.

Für die Auslösung der Fruchtkörperbildung ist nicht eine teilweise Erschöpfung des Substrates nötig, auch nicht ein bestimmter Fruchtungsstoff in Nährböden. Wohl aber muß eine bestimmte Myceldichte vorhanden sein. Die Fruchtkörperbildung ist als Gemeinschaftsleistung eines Mycelkomplexes aufzufassen, dem mindestens 1,5 g normaler Pferdemist zur Verfügung stehen muß.

Für die Verödung der Kulturen nach 1—4monatiger Fruchtungszeit muß man eine allgemeine, nicht vom *Coprinus*mycel verursachte Substratzersetzung und die Anreicherung eines kochfesten Stoffwechselproduktes, das als Hemmstoff wirkt, verantwortlich machen.

Literatur.

Borriss, H.: Beiträge zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Fruchtkörper von *Coprinus lagopus*. Planta (Berl.) **22**, 28 (1934). — Über den Einfluß äußerer Faktoren auf Wachstum und Entwicklung der Fruchtkörper von *Coprinus lagopus*. Planta (Berl.) **22**, 644 (1934). — Boyle, C.: Studies in the Physiology of Parasitism. X. The Growth Reactions of certain Fungi to their staling Products. Ann. Bot. **38**, 113 (1924). — Brefeld, O.: Über die Bedeutung des Lichtes für die Entwicklung der Pilze. Bot. Ztg. **35**, 386 (1877). — Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mycologie. Basidiomyceten III. H. VIII. 1889. — Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, H. III u. IV. 1877 u. 1881. — Brown, W.: On the Germination and Growth of Fungi at various Temperatures and in various Concentrations of Oxygen and of Carbon Dioxide. Ann. Bot. **36**, 257 (1922). — Experiments on the Growth of Fungi on Culture Media. Ann. Bot. **37**, 105 (1923). — Falck, R.: Die Bedingungen und die Bedeutung der

Zygotenbildung bei *Sporodinia grandis*. Beitr. Biol. Pflanz. 8, 213 (1902). — Die Kultur der Oidien und ihre Rückführung in die höhere Fruchtform bei Basidiomyceten. Beitr. Biol. Pflanz. 8, 307 (1902). — Klebs, G.: Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896. — Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. Jb. Bot., **32**, 1 (1898); **35**, 80 (1900). — Küster, E.: Keimung und Entwicklung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **26** a, 246 (1908). — Nikitinsky, J.: Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. Jb. Bot. **40**, 1 (1904). — Pratt, Clara: The Staling of fungal Cultures. I u. II. Ann. Bot. **38**, I: 563, II: 599 (1924). — Schenck, E.: Die Bedingungen der Fruchtkörperbildung bei *Bolbitius* und *Coprinus*. Beih. Bot. Zbl. **36**, 355 (1919). — Stoll, K.: Untersuchungen über die koprophilen Pilze unserer Haustiere. Zbl. Bakter. usw. II **90**, 97 (1934). — Weir, James, R.: Untersuchungen über die Gattung *Coprinus*. Flora (Jena) **103**, 263 (1911).

Frau Dr. K. Voderberg, (3b) Greifswald, Grimmerstr. 88.

Planta, Bd. 37, S. 161—209 (1949).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Jena.

ZELLMORPHOLOGISCHE UND ZELLPHYSIOLOGISCHE STUDIEN AN CYANOPHYCEEN.

I. Mitteilung.

LITERATURÜBERSICHT UND VERSUCHE MIT OSCILLATORIA BORNETI ZUKAL.

Von

HORST DRAWERT.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Oktober 1948.)

I. Einleitung.

Während ZOPF über die Morphologie der Cyanophyceen bereits 1882 schreiben konnte: „Die Morphologie der Spaltalgen . . . hat . . . im Laufe der Zeit eine solche Ausbildung erfahren, daß man heutzutage der Ansicht ist, dieselbe sei im wesentlichen zum Abschluß gelangt und ein neuer Impuls für die Erforschung derselben kaum zu erwarten", müssen wir in bezug auf die innere Struktur der Blaualgenzelle auch jetzt noch mit GUILLIERMOND bekennen: „Il n'est pas de question de cytologie végétale qui soit aussi compliquée et aussi controversée que celle de la structure des Cyanophycées" (1925, S. 1504). GEITLER, einer der besten Kenner der Blaualgen, gibt folgendes Bild unserer augenblicklichen Kenntnisse: „Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Beobachtungstatsachen ausreichen, um die Auffassung von der vergleichsweise primitiven Organisation der Blaualgenzelle zu stützen. Trotz aller Bemühungen sind aber die Erkenntnisse noch hauptsächlich negativer Natur. Über die Rolle, welche die einzelnen Teile im Leben der Zelle spielen, bestehen nur Vermutungen. . . . Von einem höheren Standpunkt aus betrachtet steht die cytologische Erforschung der Blaualgenzelle erst am Anfang. Das bisher Geleistete ist im Vergleich zu dem auf anderen Gebieten Erreichten eigentlich nur Vorarbeit. Im wesentlichen wurde das *Vorhandensein* einer abweichenden Organisation festgestellt; sie zu verstehen, bleibt die weitere Aufgabe. Die Schwierigkeiten liegen dabei darin, daß sie nicht in distinkte Elemente zerlegt werden kann wie etwa eine ‚typische' Zelle in Kern, Zytoplasma und Plasten" (1936, S. 11).

An Hand einiger Beispiele aus der Literatur soll kurz die heute in den Lehrbüchern vertretene Auffassung von der Struktur der

Blaualgenzelle, die sich vorwiegend auf die Arbeiten von GUILLIERMOND (1906 u. f.) und BAUMGÄRTEL (1920) stützt, mit anderen Anschauungen verglichen werden, um die ganze Problematik aufzuzeigen.

Dem Aufbau der Cyanophyceenzelle wird folgendes Schema zugrunde gelegt: Zellwand, Chromatoplasma, Zentroplasma (Zentralkörper der älteren Autoren und der französischen Schule), und als Zelleinschlüsse Endo-, Ekto- und Epiplasten; dazu kommen noch Chromidialapparat im Zentroplasma und Vakuolen im Chromatoplasma. Über Vorhandensein oder Nichtvorhandensein, Bau und Funktion dieser einzelnen Organelle sind nun folgende Ansichten vertreten worden. (Die Zusammenstellung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.)

Zellwand (unter Ausschluß der bei vielen Blaualgen vorhandenen Scheide). Eine den Membranen der höheren Pflanzenzelle entsprechende Zellwand ist nach den meisten Autoren vorhanden, häufig wird aber eine Verwachsung derselben mit dem Protoplasten angenommen. Andererseits wird ihr vom Plasma besonders differenziertes Vorhandensein aber auch geleugnet und in der Membran nur der äußere, noch lebende Teil des Plasmas von der Art einer Pellicula gesehen (BORNET und FLAHAULT 1886, BORZI 1886, in gewissem Sinne auch FRITSCH 1905, KRENNER 1925, MÜHLDORF 1937, vgl. KÜSTER 1942, S. 102 und 127). Die älteren Annahmen, daß die Zellwand aus Zellulose bzw. aus Chitin besteht (HEGLER 1901, KOHL 1905, ACTON 1914), können meist nicht bestätigt werden (GOMONT 1892, v. WISSELINGH 1897, WESTER 1909, GLADE 1914, KLEIN 1915, GEITLER 1925, SCHÖNLEBER 1936), nur Heterocysten (KLEIN 1915) und vielleicht die Querwände mancher Oscillatorien (ULLRICH 1929) sowie die Membranen von *Hyella* (MÜHLDORF 1938a) führen Zellulose. Auch Cutin läßt sich nicht nachweisen (GLADE 1914, KRENNER 1925), und Eiweißreaktionen verlaufen negativ (GLADE 1914), nur nach BORNET und FLAHAULT (1886), BORZI (1886), FRITSCH (1905) und in jüngerer Zeit MÜHLDORF (1937) soll die Außenhaut plasmatisch sein; wenn sich der letzte Autor dabei auf KLEIN (1915) beruft, so beruht das auf einem Irrtum; denn KLEIN hat nicht, wie MÜHLDORF angibt, einen Stickstoffgehalt der Membran, sondern gerade ihre Stickstofffreiheit nachgewiesen. Während KRENNER (1925) die Anwesenheit von Pektinen leugnet, soll nach der heute allgemein vertretenen Anschauung Pektin (KLEIN 1915, GEITLER 1925, ULLRICH 1929, SCHÖNLEBER 1936) neben Hemizellulosen (KLEIN 1915, KRENNER 1925, ULLRICH 1929) maßgebend am Aufbau der Membranen beteiligt sein.

Auch in bezug auf die Doppelbrechung widersprechen sich die Angaben. CORRENS (1897), SCHMID (1921), KRENNER (1925) konnten keine merkliche Doppelbrechung wahrnehmen, und auch WEBER (1939) scheint keine Anisotropie der Zellwände beobachtet zu haben. HEGLER (1901), KOHL (1903), ULLRICH (1929), BECKER (1937) führen dagegen zum Teil starke Doppelbrechung an. Nach KLEIN (1915) und MÜHLDORF (1937) sind die Wände leicht in konzentrierter Schwefelsäure löslich, nach GOMONT (1892) aber fast unlöslich. Allgemein wird Löslichkeit in Eau de Javelle angegeben (KLEIN 1915, ULLRICH 1929).

Chromatoplasma. Sehr widersprechend sind die Angaben über das Chromatoplasma, das z. B. bei *Chroococcus turgidus* nach CHODAT (1894) die ganze Zelle ausfüllt, während nach den meisten Autoren eine Differenzierung des Zellinhaltes in einen farblosen zentralen und einen gefärbten peripheren Teil bei allen Cyanophyceen anzutreffen ist. Das Chromatoplasma wird entweder als ein Chromatophor

aufgefaßt (HIERONYMUS 1892, ZUKAL 1892, PALLA 1893, STOCKMAYER 1894, FISCHER 1897, OLIVE 1905, KRENNER 1925), der die Pigmente diffus verteilt (OLIVE 1905) bzw. in Granaform (HIERONYMUS 1892, PALLA 1893) enthält, oder es stellt keine besondere morphologische Differenzierung dar und unterscheidet sich nur durch den Farbstoffgehalt vom farblosen zentralen Plasma. Auch im letzteren Fall sollen die Farbstoffe diffus verteilt (MASSART 1901, GARDNER 1906, GUILLIERMOND 1906, s. auch 1933, S. 63, LEE 1927, POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY 1929, DELAPORTE 1940), in Granaform (ZACHARIAS 1892, WAGER 1903, BAUMGÄRTEL 1920, GEITLER 1937) oder in kleinen Vakuolen gelöst (HAUPT 1923) bzw. bei Zugrundelegung einer Wabenstruktur des Plasmas in den Wabenwänden lokalisiert (NADSON 1895, BÜTSCHLI 1896) vorkommen. Aber auch eine Vielzahl von Chromatophoren wird angegeben in Form kleiner Körnchen (HEGLER 1901: „Cyanoplasten", KOHL 1903), mit amöboiden Umrissen (CRATO 1896), als durchlöcherte Plättchen (DEINEGA 1892) oder größere Platten (MEYER 1904), und *Chroococcus turgidus* soll selbst mit einem Pyrenoid ausgerüstete Chromatophoren haben (HANSGIRG 1885).

Zentroplasma. Beim Zentroplasma nimmt wohl die Diskussion, ob dem Zentralkörper Zellkernfunktion zukommt oder nicht, den breitesten Raum ein (vgl. KÜSTER 1942, S. 126). Nach BÜTSCHLI (1890), der wohl als erster wirklich streng zwischen farblosem Zentralkörper und farbstofftragender Rindenschicht unterscheidet, stellt der Zentralkörper den Zellkern, also eine konstante Erscheinung aller Cyanophyceen dar. In der Folgezeit ist aber die Auffassung des Zentralkörpers überhaupt als selbständigen, immer vorhandenen Zellbestandteils nicht unwidersprochen geblieben. So soll nach CHODAT (1894) bei *Chroococcus turgidus* eine Unterscheidung zwischen Zentralkörper einerseits und peripherem Plasma andererseits nicht möglich sein. Und MARX (1892) kann bei *Oscillatoria* äußerst selten und nur bei gewissen Arten einen besonderen Zentralkörper erkennen. FISCHER (1897) vertritt die Meinung, daß der Zentralkörper nur der vom hohlzylindrischen Chromatophor umschlossene, mit Assimilationsprodukten und Reservestoffen beladene Teil des Protoplasten ist, es sich also nicht um ein selbständiges Organell handelt, zumal auch keine Membran den Zentralkörper umgibt. In einer anderen Arbeit spricht FISCHER (1905) von einem dem Chromatophor anliegenden inneren Plasmasack, der mit Anabaenin gefüllt ist. Nach NADSON (1895) bildet der Zentralkörper zwar kein scharf differenziertes und vom Protoplasma (= Chromatoplasma) abgegrenztes Gebilde, ist aber wohl phylogenetisch als Vorläufer des echten Zellkerns aufzufassen. Auch SPEARING (1937) vertritt eine ähnliche Auffassung; denn nach seinen Angaben läßt sich in jungen Zellen wohl ein Zentralkörper — allerdings ohne scharfe Abgrenzung zum peripheren Plasma — erkennen; bei älteren dagegen ist es nicht mehr möglich, von einem besonderen Zentralkörper zu sprechen. Trotzdem sollen aber Zentralkörper und Zellkern homologe Gebilde sein. Nach HAUPT (1923) unterscheidet sich das periphere nur durch seinen Pigmentgehalt vom zentralen Plasma. Letzteres hat vielleicht kernähnliche Funktion, ist aber nie als Kern organisiert. HOLLANDE (1932, 1933), dem sich auch GONÇALVES DA CUNHA (1935) anschließt, sieht im Zentralkörper nur eine sekundäre Sekretionserscheinung des Plasmas.

Während die anderen Autoren sich wohl über die konstante Existenz eines besonderen Zentroplasmas einig sind, weichen doch ihre Meinungen über Struktur und Funktion desselben stark voneinander ab. Im allgemeinen wird angenommen, daß zwischen Zentralplasma und peripherer Schicht keine scharfe Grenze besteht. Das Vorhandensein einer Membran zwischen beiden Teilen bei allen Cyanophyceen behauptet wohl nur PALLA (1893). Nach dessen Ansicht stellt der Zentralkörper auch ein homogenes Gebilde dar, während alle anderen Autoren von einer mehr

oder weniger ausgeprägten Strukturierung sprechen. SPEARING (1937) beobachtete bei *Oscillatoria splendida* eine äußere Membran am Zentralkörper, während bei den anderen von ihm untersuchten *Oscillatoria*-Arten keine scharfe Grenze zwischen Zentro- und Chromatoplasma zu erkennen war. Der Auffassung BÜTSCHLIS, daß wir im Zentralkörper ein dem Zellkern der höheren Pflanze homologes, zumindest aber analoges Gebilde zu sehen haben, schließen sich unter anderen folgende Forscher an: HIERONYMUS (1892), STOCKMAYER (1894), NADSON (1895), HEGLER (1901), KOHL (1903, 1905), WAGER (1903), PHILLIPS (1904), OLIVE (1905), GARDNER (1906), BENTHEY (1907), SWELLENGREBEL (1910), BROWN (1911), ACTON (1914), DEHORNE (1920), GUILLIERMOND (1926, 1933), LEE (1927), GADAUVAN (1933), PETTER (1933). Da sich nach den meisten Autoren eine „Kern"-Membran nicht nachweisen läßt, wird der Zentralkörper seit HIERONYMUS (1892) als „offener Zellkern" betrachtet. Das Fehlen einer Kernmembran soll darauf beruhen, daß sich bei der hohen Teilungsfrequenz der Cyanophyceenzelle die Zellkerne ununterbrochen in Teilung befinden, so daß kaum Ruhestadien vorhanden sind (DEHORNE 1920). Die Kernteilung soll nun amitotisch (GARDNER 1906, SWELLENGREBEL 1910, ACTON 1914), haplomitotisch (GUILLIERMOND 1933, S. 200 u. f.) oder mitotisch (KOHL 1903, PHILLIPS 1904, OLIVE 1905) erfolgen. OLIVE spricht sogar von Chromosomenkonstanz bei den einzelnen Arten.

Von anderer Seite wird aber die Kernnatur des Zentralkörpers abgelehnt (ZACHARIAS 1890, CHODAT und MALINESCO 1893, FISCHER 1897, 1905, MASSART 1901, BAUMGÄRTEL 1920), und das Zentroplasma soll das einzige Zytoplasma der Cyanophyceenzelle (ZUKAL 1892), eine Vakuole (MEYER 1904), ein Vakuolensystem (DANGEARD 1933) oder gar ein Chondriom (ALEXEIEFF 1924) darstellen. Auch GONÇALVES DA CUNHA (1935) weist Mitochondrien im Zentralkörper nach, während nach GUILLIERMOND (1915) die Cyanophyceen überhaupt frei von Mitochondrien sind.

Bis heute ist noch keine Klärung des Kernproblems der Blaualgen erfolgt, wie folgende Sätze beweisen: „Celui-ci" (gemeint ist der Zentralkörper) „est donc, en réalité, un noyau, . . ." (GUILLIERMOND 1933, S. 202) und „darüber, daß die Cyanophyceen ebenso kernlos wie plastidenfrei sind, besteht kaum noch ein begründeter Zweifel" (KÜSTER 1935, S. 118).

Andererseits enthalten aber die Blaualgen Chromatinsubstanz (MOCKERIDGE 1927), und einwandfrei ist das Vorkommen von Kern-Thymonukleinsäuren im Zentralkörper vor allem durch FEULGENS Nuklealreaktion nachgewiesen worden (POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY 1929, NEUMANN 1930, PETTER 1933, GONÇALVES DA CUNHA 1935, SPEARING 1937, DELAPORTE 1940), so daß man mit Recht von einem „Chromidialapparat" (GULILIERMOND 1906) sprechen kann. Am besten trifft wohl GEITLER die ganze Sachlage, wenn er von dem Standpunkt ausgeht, daß die Blaualgenzelle in ihrer *ganzen* Organisation so grundlegend von der Struktur einer höheren Pflanzenzelle abweicht, daß es überhaupt müßig ist, bei den Cyanophyceen nach einem morphologisch differenzierten Zellkern zu suchen: „. . . an Stelle der Differenzierung in Kern, Zytoplasma und Plasten ist eine prinzipiell andersgeartete, undifferenziertere Organisation vorhanden" (1934, S. 52). „Die Blaualgenzelle ist nicht vom Zytoplasma erfüllt, sondern von einem Plasma, das der *Summe von Karyo- und Zytoplasma* entspricht, das es aber nicht zur *Auseinanderlegung* dieser in ihm schlummernden Möglichkeiten gebracht hat" (1926, S. 233).

Zelleinschlüsse. Ganz verwirrend sind die in der Literatur vorhandenen Angaben über Natur und Lokalisation der als Granulation in der Blaualgenzelle vorkommenden Einschlüsse. Von echten Zellkernen (ZUKAL 1892) und Schwärmsporen (ZUKAL 1896) über Vakuolen (DANGEARD 1933), gewöhnliche

Stoffwechselprodukte (GEITLER 1922) bis zu gar nicht präformierten, nur durch die Behandlung hervorgerufenen Entmischungsprodukten (CHOLNOKY 1937) haben diese Einschlüsse in den Anschauungen ihrer Untersucher alle nur möglichen Wandlungen durchgemacht, so daß es zu weit führen würde, hier darauf im einzelnen näher einzugehen.

Während BÜTSCHLI (1890) entsprechend ihrer Tinktion mit Hämatoxylin zwei Granulaarten unterscheidet: „rote" und „farblose Körner", beschreibt NADSON (1895) bereits vier. Mit BAUMGÄRTEL (1920) werden heute meist 3 Gruppen auseinandergehalten, die Verfasser sehr unglücklich als Endo-, Ekto- und Epiplasten bezeichnet. Gegen diese Terminologie wendet sich mit Recht GEITLER (1936), nachdem er sie leider durch Übernahme in seine älteren zusammenfassenden Werke schon allgemein verbreitet hat. Unter „Plasten" verstehen wir in der allgemeinen Zytologie selbständige, teilungsfähige zytoplasmatische Körper, die nur aus ihresgleichen entstehen können (GEITLER 1936, S. 8), und diese Definition trifft für die Plastengruppen BAUMGÄRTELs bestimmt nicht zu. GEITLER schlägt deshalb für Ektoplasten den alten von BORZI (1886) geprägten Begriff, „Cyanophycinkörner" und für Epiplasten den Ausdruck „Metachromatinkörper" (GUILLIERMOND 1906) vor. Für die von GEITLER unter Vorbehalt noch weiter benutzte Bezeichnung Endoplasten möchte ich „Zentralsubstanz" (ZACHARIAS 1890) setzen, da wir über ihre chemische Beschaffenheit noch nichts wissen, aber durch diesen Begriff doch zum Ausdruck gebracht wird, daß es sich um einen im zentralen Teil der Zelle lokalisierten Einschluß handelt. Diesen Begriffen (über Untersuchungsmethoden zu ihrer zytologischen Unterscheidung siehe GEITLER 1925, S. 46) entsprechen mehr oder weniger gut folgende Bezeichnungen anderer Autoren: *Cyanophycinkörner* = farblose Körner (BÜTSCHLI 1890), Körner (ZACHARIAS 1890), Reservekörner (NADSON 1895), Schleimvakuolen (HEGLER 1901), β-Granula (GARDNER 1906). Mitochondrien (DEHORNE 1920), Ektoplasten (BAUMGÄRTEL 1920). *Metachromatinkörper* = rote Körner (BÜTSCHLI 1890), Nukleolen (ZACHARIAS 1890), Schleimkugeln (PALLA 1893), Chromatinkörner (NADSON 1895), Schleimvakuolen (HEGLER 1901; Cyanophycinkörner fallen bei HEGLER auch unter diesen Begriff), Zentralkörner (KOHL 1903), Volutinkörner (MEYER 1904), chromatin vesicles (PHILLIPS 1904), chromatische Granulation (OLIVE 1905, GONÇALVES DA CUNHA 1935), Anabaeninkörner (FISCHER 1905), α-Granula (GARDNER 1906), Epiplasten (BAUMGÄRTEL 1920), Zentro- und Epinukleosomen (HOLLANDE 1932), euchromatische Körper (GAVAUDAN 1933), chromatisches Retikulum (SPEARING 1937). *Zentralsubstanz* = Füllsubstanz (NADSON 1895), Zentralkörner (ZACHARIAS 1900), Endoplasten (BAUMGÄRTEL 1920), eventuell sind auch die chromatin vesicles (PPILLIPS 1904), die chromatin granules (OLIVE 1905) und die Anabaeninkörner (FISCHER 1905) hierher und nicht zu den Metachromatinkörpern zu rechnen.

Ihrer chemischen Natur nach bestehen die Cyanophycinkörner wohl vorwiegend aus Lipo-Proteiden. Die Metachromatinkörper besitzen wahrscheinlich zweischichtigen Charakter mit Volutin in der Peripherie. Über die chemische Struktur der Zentralsubstanz ist noch weniger bekannt, es besteht aber die Möglichkeit, daß sie vorwiegend an Proteine gebundenes Glykogen enthält.

Vakuolen. Wenn auch in der letzten Auflage von STRASBURGERS Lehrbuch der Botanik von HARDER (1947, S. 307) die Auffassung GUILLIERMONDS über das Vorkommen von Vakuolen im Chromatoplasma geteilt wird, so ist diese Frage doch noch sehr strittig (vgl. KÜSTER 1942, S. 126).

Folgende Autoren fassen Vakuolen als normalen Bestandteil der Cyanophyceenzelle auf: PALLA (1893), GUILLIERMOND (1906 u. f.), HAUPT (1923), DANGEARD (1933), GAVAUDAN (1933), GONÇALVES DA CUNHA (1935), BECKER und BECKEROWA (1937),

CHADEFAUD (1937), DELAPORTE (1939), und Vorkommen echter Zellsaftvakuolen als Charakteristikum einzelner Arten beschreiben SCHMID (1920) für *Spirulina* und SCHÖNLEBER (1937) für *Scytonema javanicum*. Für das Fehlen normaler Zellsaftvakuolen setzen sich ein: WENT (1888), ZACHARIAS (1890), GOMONT (1892), HIERONYMUS (1892), ZUKAL (1892), MASSART (1901), KOHL (1903), PRAT (1921), SCHMID (1921), GEITLER (1922 u. f.), KRENNER (1925,) HOLLANDE (1933), SCHÖNLEBER (1936), SPEARING (1937). Manchmal auftretende Vakuolisation soll nach diesen Autoren eine Degenerationserscheinung sein, nur HIERONYMUS beschreibt auch bei ganz normalen, lebenskräftigen Zellen das gelegentliche Vorkommen von Vakuolen besonders zwischen Rindenschicht und Zentralkörper. Für das Nichtvorhandensein von Zellsaftvakuolen und für die ganz allgemein hohe Viskosität des Cyanophyceenprotoplasten sprechen auch folgende Tatsachen: Nie wurde in irgend einem Teil der lebenden Blaualgenzelle BROWNsche Molekularbewegung, nie Plasmaströmung beobachtet, und nach ANDREWS (1915) läßt sich selbst durch hohe Zentrifugalkräfte keine Verlagerung des Zellinhaltes bei *Oscillatoria princeps* erzielen. Weiter schließt auch SCHORR (1938) aus dem Auftreten von langen Plasmafäden nach Zellzerstörung und aus deren Widerstandskraft gegenüber der quellenden Gallertscheide bei *Polychlamydum insigne* auf eine hohe Kohäsion des Plasmas. Dieser Schluß und die Befunde ANDREWS' stehen allerdings mit der zweiten Annahme SCHORRS, daß das Plasma flüssig sein soll, im Widerspruch.

Dieser kurze Literaturauszug beweist wohl zur Genüge, wie weit entfernt wir von einer umfassenden Kenntnis der Organisation der Blaualgenzelle noch sind. Da aber die Beherrschung der anatomischen Struktur eines Organismus die notwendige Voraussetzung für die Erkenntnis seines physiologischen Verhaltens ist, erschien es mir wünschenswert, erneut den ganzen Fragenkomplex einer experimentellen Nachprüfung zu unterziehen. Da die bisher benutzten Objekte und Methoden kaum noch eine weitere Klärung des Problems erwarten ließen, erhoffte ich neue Einblicke durch noch nicht auf die Cyanophyceen angewandte Untersuchungsmethoden wie die Fluoreszenzmikroskopie und das Phasenkontrastverfahren, sowie durch die Anwendung der alten Methoden an einem neuen Objekt zu gewinnen. Die folgende erste Mitteilung befaßt sich vorwiegend mit dem zweiten Weg. Als Objekt kam in erster Linie eine vom allgemeinen Bau der Cyanophyceenzelle abweichende Blaualge in Frage, da häufig atypisch erscheinende Vertreter gerade das Typische in extremer Form und dadurch leichter faßbar zeigen. Ein glücklicher Zufall spielte mir durch die Aufmerksamkeit von Fräulein Dr. CH. THIELKE[1] die *Oscillatoria Borneti* ZUKAL in die Hände, auf die sich die hier mitgeteilten ersten Versuchsergebnisse beziehen. Zum Vergleich wurde eine Reihe anderer *Oscillatoria-*, *Anabaena-*, *Rivularia-*, *Tolypothrix-*Arten, sowie *Chroococcus turgidus* herangezogen.

[1] Ich möchte auch an dieser Stelle Fräulein Dr. THIELKE meinen Dank aussprechen.

II. Beschreibung des Versuchsobjektes.

Oscillatoria Borneti ZUKAL wurde von ZUKAL in einem Aquarium zwischen *Fontinalis*-Blättchen entdeckt, 1894 als *Lyngbya Bornetii* beschrieben und dann von GEITLER eingehender untersucht (1925a, b, 1932, 1936). Als Fundorte werden Alpenseen und Teiche, Bäche im Sauerland, im Ural und in Lettland (GEITLER 1932) angegeben. GEITLER hält die Art für wahrscheinlich weit verbreitet (1925b). Neben der typischen Form werden zwei zartere Abarten als var. *intermedia* (Ural) und f. *tenuis* (Lettland) angegeben.

Die mir zur Verfügung stehenden Algen entsprechen der typischen Form und stammen aus dem durch seine Tuffsteinbildungen bekannten Pennickental bei Jena-Wöllnitz. Hier trat die Alge an einer breiteren, ruhigeren Stelle des Baches 1947 in kleineren Mengen untergetaucht zwischen Moos und Blattresten sowie wattenbildend am Grunde auf. 1948 war sie bedeutend reichlicher, auch schwimmend mit viel Detritus (Süßwasserkalk) untermengt, immer im Schatten der Uferbüsche anzutreffen. Als Charakterpflanze bedeckte das Wasser zu jeder Jahreszeit eine *Zygnema*, dessen genaue Bestimmung mir noch nicht möglich war, da bis jetzt weder Zygoten noch Parthenosporen beobachtet werden konnten. Das p_H des Standortwassers betrug 7,0—7,2. Dichtere Watten der *Oscillatoria Borneti* hatten makroskopisch einen mahagonibraunen Farbton. Die Alge scheint reich an Phykoerythrin zu sein; denn verdunkelte, absterbende Kulturen färbten das Wasser violettrot, mit demselben Farbton, den in Zersetzung übergehendes *Batrachospermum* dem Wasser verleiht. Im September ins Laboratorium hereingenommene Algen hielten sich im Standortwasser an einem Ost-, später Südfenster im ungeheizten Raum über ein halbes Jahr. Selbst stärkere Eisbildung wurde gut vertragen. Juli-August dem Standort entnommene Watten waren in spätestens 7 Tagen in Zersetzung übergegangen.

Im Mikroskop fallen die 13—17 μ breiten Fäden mit ihren im Längsschnitt niedrigen bis quadratischen, selten auch längeren (10—21 μ) Zellen zunächst durch ihre Farblosigkeit auf. Die flach abgerundeten, mehr oder weniger kopfigen Endzellen besitzen meist eine verdickte Membran. Das Merkwürdigste an den Zellen sind aber die großen, nur von zarten Plasmawänden getrennten „Vakuolen", die den Hauptteil des Zellinneren einnehmen. An den Querwänden sind bei frischem, großvakuoligem Material selten, bei kleinvakuoligem häufiger und bei älteren, kurz vor dem Absterben stehenden Fäden bedeutend reichlicher Cyanophycinkörner zu erkennen. Etwas größere Körner, die vielleicht Metachromatinkörperchen entsprechen könnten, sind in den äußerst durchsichtigen Zellen sehr selten zu finden. Die große Durchsichtigkeit der Algen bedingt ein besonders klares Erkennen der Querwandbildungen und der damit verbundenen Zellteilungen.

Die eigenartige Vakuolisation ist von GEITLER (1925a, b) als „Keritomie" bezeichnet worden. Die Keritomie soll sich von der echten Vakuolisation der Blaualgen dadurch unterscheiden, daß sie im Gegensatz zur letzteren auf jederzeit rückgängig zu machender Veränderung des Plasmas beruht, die die Lebensfähigkeit der Zelle nicht aufhebt. Es erfolgt nach GEITLER Bildung von Zellsaft, der in den Lakunen des Plasmas ausgeschieden wird, ohne dessen Struktur zu zerstören. Das Plasma wird in Waben zerlegt, die immer größer werden, so daß das Zentroplasma nur noch einige Stränge bildet (Abb. 1a u. b; s. auch die Abbildungen in den Abhandlungen von GEITLER). Das Bild ist äußerst mannigfaltig und wechselnd. So kann das periphere Plasma kleinere und das zentrale Plasma größere Vakuolen besitzen und umgekehrt. Manchmal zieht sich ein zentraler Plasmastrang, der nach den Membranansätzen der sich neu bildenden

Querwände zu ausbiegt, durch mehrere Zellen (Abb. 1 b), und die periphere Schicht kann eine regelmäßige Schaumstruktur annehmen. In manchen Fäden besitzen die Zellen aber auch nur eine große zentrale Vakuole und nur kleinvakuoliges Plasma in der Peripherie (Abb. 3a). Diese Vakuolen erscheinen völlig homogen und enthalten nicht den geringsten Einschluß, der etwa durch BROWNsche Molekularbewegung Aufschluß über die Viskosität des Inhaltes geben könnte. Nichts deutet jedenfalls darauf hin, daß der Inhalt der Waben entsprechend den Angaben von ZUKAL (1894) „sich als bedeutend dünnflüssiger" erweist, und daß man mit GEITLER (1925a) von Zellsaft sprechen dürfte.

Es ist naheliegend, daß diese eigenartige Zellstruktur zu zellphysiologischen Studien herausforderte. Zur Analysierung der Granula benutzte ich die Methylenblaufärbung (GEITLER 1925b, S. 46), weiter untersuchte ich die Organisation der

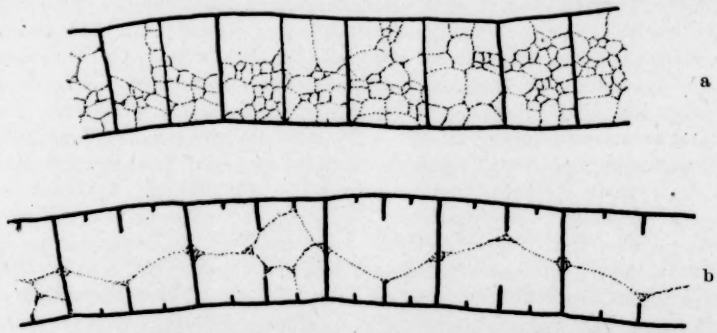


Abb. 1a u. b. Keritomisch verändertes Plasma bei *Oscillatoria Borneti*. a Kleinwabiges Plasma im peripheren Teil des Fadens; b sich von Zelle zu Zelle ziehender Plasmastrang im zentralen Teil des Fadens.

Zellen mit Hilfe der Vitalfärbung, mit polarisations- und fluoreszenzoptischen Analysen, Nuklealreaktion, plasmolytischen Versuchen mit einigen Elektrolyten und Anelektrolyten, außerdem wurden die Fäden mit den Reagenzien Jod-Jodkalium, Chlorzinkjod, konzentrierter Schwefelsäure, Sudan III und Eau de Javelle behandelt.

III. Färbungsanalytische Untersuchungen.

1. Vitalfärbungen.

a) Literaturübersicht. Schon die älteren Untersucher der Cyanophyceenzelle benutzten die Vitalfärbung vorwiegend mit Methylenblau und Methylviolett zur Hervorhebung des Zentralkörpers, da die Zentralsubstanz diesen Farbstoff vital speichert (unter anderen ZACHARIAS 1890, 1900, PALLA 1893, STOCKMAYER 1894, KLEBAHN 1895, NADSON 1895, BRAND 1901, 1905, HEGLER 1901, MASSART 1901, KOHL 1903, BAUMGÄRTEL 1920). Ob es sich dabei allerdings wirklich um einen vitalen Vorgang handelt, ist noch nicht entschieden; denn nach MASSART (1901) und PRAT (1925) zeigen die gefärbten Algenfäden noch lebhafte Bewegungen, nach GUILLIERMOND (1925), CHADEFAUD (1937) und DELAPORTE (1940) speichert der Zentralkörper aber erst nach dem Absterben der Zellen den Farbstoff, und auch BAUMGÄRTEL (1920) hält die Zentralkörperfärbung mehr für einen postvitalen Vorgang. Bei meinem Versuchsobjekt *Oscillatoria Borneti* konnte ZUKAL (1894) durch Vitalfärbung mit Methylenblau keinen Zentralkörper nachweisen.

Eine eingehendere vitalfärberische Analyse der Blaualgenzelle finden wir zuerst bei SCHMID (1923) und dann vor allem bei GUILLIERMOND (1925 u. f.). Seitdem

ist die Vitalfärbungsmethode häufiger mit mehr oder weniger widersprechenden Ergebnissen angewandt worden, so von folgenden Autoren: PRAT (1925, 1931), POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY (1929), DANGEARD (1933), GAVAUDAN (1933), GONÇALVES DA CUNHA (1935), BECKER und BECKEROWA (1937), CHADEFAUD (1937), CHOLNOKY (1937), SCHÖNLEBER (1937), STROH (1938), DELAPORTE (1940).

Wie schon BRAND (1905) bei Methylenblau und SCHMID (1923) außer mit Methylenblau auch mit Fuchsin, Methyl- und Jodgrün beobachtete, werden diese Farbstoffe von den fadenförmigen Cyanophyceen zuerst nur von den Endzellen eines Trichoms aufgenommen. Von den Apikalzellen aus wandert dann der Farbstoff allmählich zur Fadenmitte, färbt dabei aber nicht alle Zellen gleichmäßig, sondern kann einzelne Zellen überspringen, so daß nicht oder schwach gefärbte Fadenzonen inmitten tiefgefärbter Abschnitte liegen. Dieses unterschiedliche Verhalten der einzelnen Zellen ein und desselben Fadens gegenüber Farbstoffen wird immer wieder beobachtet (PRAT 1925, GAVAUDAN 1933, BECKER und BECKEROWA 1937, SCHÖNLEBER 1937, STROH 1938). Im Gegensatz zu den oben erwähnten lassen andere Farbstoffe wie Neutralrot, Methylviolett, Nilblau, Safranin, Bismarckbraun keinen polaren Färbungsbeginn erkennen (SCHMID 1923), sondern färben alle Zellen eines Fadens gleichzeitig, allerdings auch mit sehr unterschiedlicher Intensität.

In bezug auf Aufnehmbarkeit und Lokalisation der einzelnen Farbstoffe liegen folgende Angaben vor. Neutralrot soll einerseits von Cyanophyceenzellen gar nicht oder nur schlecht aufgenommen werden (POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY 1929, PRAT 1931, SCHÖNLEBER 1936 für *Scytonema Julianum*), andererseits sich aber besonders gut für Vitalfärbung eignen (SCHÖNLEBER 1937). Diese widersprechenden Angaben zum Teil desselben Autors sind wohl darauf zurückzuführen, daß gerade bei den Cyanophyceen durch unbekannte physiologische Zustände der Zelle bedingte Zufälligkeiten bei der Vitalfärbung eine große Rolle spielen (BECKER und BECKEROWA 1937). Darauf beruht wohl auch, daß PRAT (1931) bei Meerescyanophyceen außer mit Toluidinblau keine Vitalfärbung erzielen konnte, während BECKER und BECKEROWA ebenfalls bei Meeresblaualgen gute Vitalfärbungen mit Neutralrot, Brillantkresyl-, Methylenblau, Phenosafranin, Janusgrün und auch Eosin erreichten. Nach FRITSCH (1904), BRAND (1905) und SCHÖNLEBER (1937) soll dagegen Eosin ebensowenig wie Prune pure (SCHÖNLEBER 1937) aufgenommen werden, DRAWERT (1938) erwähnt aber die Vitalfärbung eines spindelförmigen Zentralkörpers bei einer *Oscillatoria* mit Prune pure.

In den meisten beobachteten Fällen erscheinen die Farbstoffe wie Neutralrot, Methylen-, Brillantkresyl- und Nilblau zuerst im Chromatoplasma in Form kleiner, metachromatisch gefärbter Körperchen (GUILLIERMOND 1925—1933, GAVAUDAN 1933, GONÇALVES DA CUNHA 1935, BECKER und BECKEROWA 1937, CHADEFAUD 1937, DELAPORTE 1940). Diese Metachromatinkörperchen sollen präformierte Vakuolen darstellen, die im ungefärbten Zustand nicht sichtbar sind (GUILLIERMOND), oder Entmischungskörper der lipoiden Phase des Plasmas (CHOLNOKY 1937) sein. Auf alle Fälle schwellen die Metachromatinkörperchen an und bilden unter dem Einfluß des Farbstoffes kleinere und größere Vakuolen, in denen dann später sekundär wieder intensiv gefärbte Metachromatinkörner ausfallen (GUILLIERMOND, BECKER und BECKEROWA, CHADEFAUD, DELAPORTE). Diese entstehenden Vakuolen können so groß werden, daß das Chromato- und das Zentroplasma auf einige Plasmabrücken reduziert wird, so daß ein der Keritomie ähnlicher Zustand auftritt (BECKER und BECKEROWA 1937). Die so umgebildeten Zellen behalten noch ihre Teilungsfähigkeit und der ganze Vorgang soll reversibel sein. Andererseits wird die durch Farbstoffe bedingte Vakuolisation aber auch als rein pathologischer Vorgang aufgefaßt (STROH 1938). Sind primär in den

Zellen Vakuolen vorhanden, so speichern diese sofort Farbstoffe wie Neutralrot, z. B. bei *Scytonema javanicum* (SCHÖNLEBER 1937) und in den Haarzellen von *Rivularia* (BECKER und BECKEROWA 1937). Nach DANGEARD (1933) soll überhaupt alles, was sich in einer Cyanophyceenzelle mit Vitalfarbstoffen färbt, dem Vakuom angehören.

Später nimmt dann auch das Zentroplasma die Farbstoffe auf, meist unter Bildung stärker gefärbter, kugeliger Körper. Eine elektive Färbung des Zentroplasmas kann mit Janusgrün erreicht werden (GUILLIERMOND 1925a, GAVAUDAN 1935, GONÇALVES DA CUNHA 1935, BECKER und BECKEROWA 1937). Da die Färbung des Zentralkörpers gewöhnlich mit einer Entfärbung der sekundären Vakuolen verbunden ist, wird dieser Vorgang von einzelnen Autoren als postvitale Erscheinung aufgefaßt (GUILLIERMOND 1925 a, 1926, GAVAUDAN 1933, DELAPORTE 1940).

Nur selten findet man Angaben über das Verhalten der Zellwände gegenüber den Farbstoffen. Eingehender berichtet nur SCHMID (1923) über Membranfärbungen bei *Oscillatoria Jenensis*. Danach lassen sich drei Farbstoffgruppen unterscheiden: 1. keine Membranfärbungen kann man mit Jodgrün, Safranin, Bismarckbraun, Helianthin erzielen. 2. Einheitliche Färbung der Längs- und Querwände bedingen Säurefuchsin, Eosin, Erythrosin, Kongorot, Methylviolett. 3. Die Querwände werden stärker als die Längswände gefärbt durch Methylenblau, Methylgrün, Neutralrot, Nilblau. Im allgemeinen sind die Membranfärbungen aber nur schwach. So konnte SCHMID (1920) dadurch, daß die Membranen gegenüber dem Zellinhalt mit Neutralrot nur mäßig gefärbt werden, bei *Spirulina Nordstedtii* die Vielzelligkeit nachweisen. Weiter gibt SCHÖNLEBER (1937) bei *Scytonema javanicum* eine intensive Membranfärbung mit Brillantkresylblau an, und auch Neutralrot färbte die Zellwände, wenn es in schwach saurer Lösung geboten wurde. Häufiger sind Färbungen der Scheiden erwähnt, doch soll hier darauf nicht weiter eingegangen werden.

b) Eigene Versuchsergebnisse. Auf Grund ihres Verhaltens gegenüber der höheren Pflanzenzelle kann man die basischen Farbstoffe unter gewissen Einschränkungen in Vakuolen-, Kern-Plasma- und Membranfärber einteilen; damit ist allerdings nicht gesagt, daß unter besonderen Bedingungen ein und derselbe Farbstoff nicht auch verschiedene Zellkomponenten färben kann (DRAWERT 1948b). Es war nun im Vergleich mit der höheren Pflanzenzelle von Interesse, wie *Oscillatoria Borneti* auf Vertreter dieser Farbstoffgruppen reagieren würde.

Vakuolenfärber. Als bekanntesten und bisher am besten untersuchten Vakuolenfärber wählte ich Neutralrot. Sofort nach der Übertragung in die Farbstofflösung (1:10000 und 1:1000 in Leitungswasser und auch in destilliertem Wasser) färben sich die Querwände, besonders die Membranverdickung der Apikalzellen. Diese Membranfärbung ist aber nur vorübergehend, und der Farbstoff wird von den „Vakuolen" mit meist zinnoberrotem Farbton gespeichert. Entsprechend den an anderen fädigen Blaualgen beschriebenen Befunden werden die einzelnen Zellen mit sehr unterschiedlicher Intensität gefärbt (Abb. 2). Auffallend ist, daß häufig zwei benachbarte Zellen die gleiche Färbungsintensität besitzen. Dies deutet darauf hin, daß die Färbungsunterschiede auf eine verschiedene Speicherfähigkeit der einzelnen Zellen

eines Fadens zurückzuführen sind. Ein großer Teil der Zellen befindet sich immer in Teilung, so daß in einem Faden relativ häufig zwei benachbarte Zellen gerade aus einer Mutterzelle hervorgegangen sein werden, d. h. sich noch nicht in ihrem Stoffwechsel unterscheiden und so die gleiche Speicherfähigkeit und damit die gleiche Färbungs-

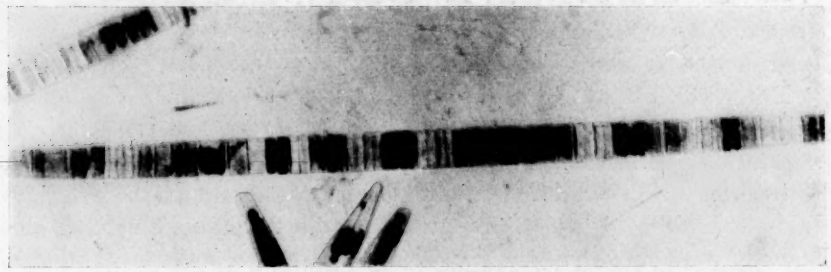
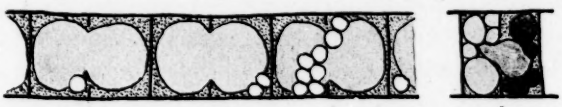


Abb. 2. *Oscillatoria Borneti* mit Neutralrot, 1:10000 in destilliertem Wasser gelöst vital gefärbt. „Vakuolen"-Färbung mit sehr unterschiedlicher Intensität in den einzelnen Zellen. Häufig besitzen zwei benachbarte Zellen die gleiche Färbungsintensität. Vergr. 400fach.

tiefe besitzen. Andererseits kommt es aber auch vor, wie schon SCHÖNLEBER (1937) für *Scytonema javanicum* berichtet, daß die einzelnen Vakuolen in ein und derselben Zelle verschieden stark gefärbt sind. So können Fäden beobachtet werden, deren Zellen eine große, gut gefärbte Zentralvakuole und daneben im peripheren Plasma kleine, fast



a b

Abb. 3a u. b. *Oscillatoria Borneti* mit Neutralrot vital gefärbt. a Zellen mit großer, gut gefärbter, zentraler Vakuole und kleinen schwach oder gar nicht gefärbten Vakuolen im wandständigen Plasma; b Zwei noch nicht ganz getrennte Tochterzellen mit gemeinsamer, schwächer gefärbter Vakuole. Während die Vakuolen der einen Tochterzelle intensive Färbung zeigen, sind die der anderen fast farblos.

oder ganz farblose Vakuolen führen (Abb. 3a). Oder zwei noch nicht ganz getrennte Tochterzellen besitzen eine gemeinsame schwächer gefärbte Vakuole, und die Vakuolen der einen Tochterzelle weisen eine intensive Färbung auf, während die der anderen fast farblos sind (Abb. 3b).

Bei einem Vergleich der Abb. 1a und 3b ist auffallend, daß in normalen, ungefärbten Zellen die Vakuolen mehr eckig-kantige Formen haben und nach Neutralrotfärbung dagegen mehr abgerundet sind. Dies ist vielleicht auf eine durch den Farbstoff verursachte Wasseraufnahme und dadurch bedingte Turgorerhöhung zurückzuführen, so daß das Plasma an den Kanten nachgeben muß. Für diese

Schlußfolgerung sprechen die zahlreichen Angaben über das vakuolige Anschwellen der vital gefärbten Metachromatinkörperchen (s. S. 169 und 201), und weiter hat STROH (1938) festgestellt, daß mit Neutralrot vital gefärbte Zellen eines *Oscillatoria*-Fadens einen höheren Turgor besitzen als ungefärbt gebliebene Nachbarzellen. Da die Vakuolenfärbung bis zum Absterben der Zellen völlig homogen bleibt, kann nicht an Hand der BROWNschen Molekularbewegung eine etwaige Verflüssigung des Inhaltes festgestellt werden.

Entsprechend den Beobachtungen SCHMIDS (1923) an *Oscillatoria Jenensis* lassen auch die *Oscillatoria Borneti*-Fäden bei Neutralrotfärbung keinen polaren Färbungsbeginn erkennen. Durch die Giftwirkung des Farbstoffes sterben die Zellen allmählich ab, dabei entfärben sich die Vakuolen und das Plasma, und granulaartige Einschlüsse nehmen den Farbstoff auf. Im Gegensatz zu anderen *Oscillatoria*-Arten fällt auch hierbei wieder die Armut an granulaartigen Einschlüssen auf. Daraus, daß die Spitzenzellen der lebenden Fäden auch immer Vakuolenfärbung zeigen, geht hervor, daß bei *Oscillatoria Borneti* die Apikalzellen nicht, wie BRAND (1905) und SCHMID (1923) für andere *Oscillatoria*-Arten annehmen, tot sein können.

Seit den Beobachtungen RUHLANDS (1908) und den eingehenden Untersuchungen STRUGGERS (1935, 1936) wissen wir, daß die Verteilung des Neutralrots in der Zelle maßgebend von der Azidität der Außenlösung beeinflußt wird. Bei niedrigem p_H wird die Membran, bei höherem p_H der Zellsaft gefärbt. In bezug auf die Cyanophyceen findet sich schon eine Angabe bei SCHÖNLEBER (1937). Während Neutralrot bei *Scytonema javanicum* normal die Vakuolen färbt, tritt bei Ansäuerung der Farbstofflösung nur Membran- und Scheidenfärbung auf. Ich prüfte deshalb auch bei *Oscillatoria Borneti* den Einfluß der Außen-C_H auf die Neutralrotaufnahme. Zur Einstellung des p_H-Wertes wurden verdünnte Phosphatpuffer benutzt (DRAWERT 1937, S. 92, Tabelle 2). Der untersuchte p_H-Bereich umfaßte das Intervall von 2,8—7,2. Bei p_H 2,8 bleiben alle Fäden farblos. Von p_H 3,5 an tritt zunächst nur in einzelnen Zellen schwache Vakuolenfärbung auf, die sich in den Stufen mit geringerem Aziditätsgrad verstärkt. Bei p_H 4—6,5 zeigen die Zellen ein und desselben Fadens sehr große Verschiedenheit in der Färbungsintensität. Diese Unterschiede verwischen sich um so mehr, je höher das p_H der Farblösung wird. Im Vergleich zu dem Verhalten der Zellen höherer Pflanzen ist das Ausbleiben einer intensiven Membranfärbung bei den höheren Aziditätsgraden bemerkenswert. Nur bei p_H 4,4 konnte in einigen Fäden eine etwas stärkere Färbung der Querwände beobachtet werden.

Membranfärber. Als typischen Vertreter dieser Farbstoffgruppe wählte ich Toluidinblau. Bei einer Konzentration von 1:10000 in

Leitungswasser zeigen die Zellen eine reine, violette Vakuolenfärbung. In Abhängigkeit von der Außen-C_H färben sich bis in den sauren Bereich hinein die Vakuolen, während bei p_H 3,5 und 4,7 die Zellen vollkommen farblos sind. Eine bleibende, intensive Membranfärbung kann bei keinem p_H-Wert beobachtet werden.

In diese Farbstoffgruppe gehört auch der, vor allem von den älteren Autoren viel benutzte Vitalfarbstoff Methylenblau, der nach Zukal (1894) bei *Oscillatoria Borneti* zu keinem Ergebnis führte. Nach Übertragung in eine Lösung 1:10000 in Leitungswasser bleiben die Fäden zunächst farblos, während in dem Präparat vorhandene Chlosterien und Diatomeen sofort starke, violettblaue Membranfärbung zeigen und bei den Diatomeen sehr bald diffuse Vakuolenfärbung oder die Bildung von blauen Farbstofftröpfchen im Zellsaft zu beobachten ist. Bei *Oscillatoria Borneti* färben sich — ebenso wie in Toluidinblau — erst 5—10 Min. nach der Farbstoffzugabe die Vakuolen in den Spitzenzellen der Fäden mit violettblauem Farbton. Von hier schreitet dann allmählich die Färbung weiter vor. Häufig ist auch die verdickte Membran der Apikalzelle violettblau gefärbt. Wie bei Neutralrot und Toluidinblau wechseln in einem Faden stärker und schwächer gefärbte Zellen miteinander ab. Manche Fäden zeigen direkt Alternanz zwischen gefärbten und farblosen Zellpaaren. Nach 1stündigem Aufenthalt in der Farblösung sind die Zellen gestorben und weisen schwache Plasma- und Membranfärbung auf.

Wie aus den Versuchsergebnissen hervorgeht, besteht zwischen dem Vakuolenfärber Neutralrot und den Membranfärbern Toluidin- und Methylenblau unter den gleichen Bedingungen kein Unterschied in ihrer Lokalisation in der *Oscillatoria*-Zelle, aber sie unterscheiden sich in bezug auf den Aufnahmeweg. Während Neutralrot von allen Zellen eines Fadens aus der Außenlösung direkt aufgenommen werden kann, scheinen für Toluidin- und Methylenblau nur die Spitzenzellen eines Fadens und die an eine Nekride grenzenden Zellen zur Aufnahme befähigt zu sein; von hier wandert der Farbstoff dann innerhalb des Fadens weiter, wie ja schon von den älteren Autoren hervorgehoben worden ist.

Kern-Plasmafärber. Von dieser gut lipoidlöslichen Farbstoffgruppe benutzte ich Chrysoidin, Kristallviolett, Janusgrün, Rhodamin B und Akridinorange. Mit allen diesen Farbstoffen wird sofort nach ihrer Zugabe eine gute Plasma- und Membranfärbung erzielt, vor allem die Querwände heben sich durch intensivere Färbung heraus. Die Vakuolen und die granulaartigen Einschlüsse des Plasmas bleiben dagegen immer farblos.

Chrysoidin, Kristallviolett und Janusgrün führen zu einem sehr raschen Absterben der Zellen. In Hinsicht auf die Befunde anderer

Autoren, daß Janusgrün nur das Zentroplasma elektiv färbt (GUILLIERMOND 1925a, GAVAUDAN 1933, GONÇALVES DA CUNHA 1935, BECKER und BECKEROWA 1937), ist es von Interesse, daß bei *Oscillatoria Borneti* kein Unterschied in der Färbungsintensität zwischen zentralem und peripherem Plasma besteht. Das gesamte Plasma der Zelle ist schwach schwarzblau gefärbt, nur die Membranen, besonders die Querwände, weisen eine stärkere Färbungsintensität auf. Nach der Rhodamin B-Färbung setzt allmählich eine Degeneration der Zelle ein, derart, daß das Plasma sich an den Wänden sammelt, besonders in den von Außen- und Querwänden gebildeten Kanten, so daß im

Abb. 4. *Oscillatoria Borneti* mit Rhodamin B, 1:1000 in destilliertem Wasser gelöst, vital gefärbt. Unter dem Einfluß des Farbstoffes sammelt sich das Plasma an den Wänden, besonders an den Kanten der Zellen, so daß sich im optischen Schnitt ein kollenchymartiges Bild ergibt. Die dabei entstehende Zentralvakuole läßt sich gut mit Neutralrot färben.

optischen Schnitt die Zellen ein kollenchymartiges Aussehen annehmen (Abb. 4). Die dabei entstehenden großen Zentralvakuolen lassen sich gut mit Neutralrot färben. Während die Plasmafärbung nur im Fluoreszenzmikroskop zu erkennen ist, sind die Membranen auch im Hellfeld mit Rhodamin B rot gefärbt.

Saure Farbstoffe. Von den geprüften sauren Farbstoffen Eosin, Kongorot und Na-Fluorescein wird der letztere von den lebenden *Oscillatoria*-Zellen aufgenommen. Die Fluoresceinfärbung ist nur im Fluoreszenzmikroskop wahrzunehmen, und zwar zeigen das Plasma und die Membranen, auch hier wieder besonders die Querwände, eine intensive grüne Fluoreszenz.

2. Postvital- und Fixierungsfärbungen.

Zur Unterscheidung der verschiedenen Plasmaeinschlüsse empfiehlt GEITLER (1925, S. 46, und 1932, S. 121) die Vitalfärbung mit Methylenblau und nachträglichem Zusatz von 0,5% KOH bzw. 1% H_2SO_4. Bei KOH-Zugabe sind dann nur die Zentralsubstanz (Endoplasten) und die Metachromatinkörperchen (Epiplasten) gefärbt und bei H_2SO_4-Zusatz nur die letzteren, während die Cyanophycinkörnchen (Ektoplasten) in beiden Fällen farblos bleiben.

Zum Ausprobieren der Methode benutzte ich zunächst einige *Oscillatoria*-Arten mit normaler zytologischer Struktur wie *Oscillatoria Jenensis, Oscillatoria splendida, Oscillatoria amphibia* und vor allem

Oscillatoria limosa; auf letztere beziehen sich die folgenden Angaben, wenn die Art nicht besonders erwähnt ist.

Bei Anwendung von Methylenblau und H_2SO_4 werden in den Zellen viele violettblau gefärbte Körperchen von sehr unterschiedlicher Größe sichtbar, die durchaus den Eindruck von Entmischungstropfen machen. Nach Zugabe von Methylenblau und KOH färben sich dagegen die Membranen violettrot und das Zentroplasma enthält ein gefärbtes Netzwerk von der Gestalt eines Golgiapparates. Diese Differenzierungen werden besonders schnell erhalten, wenn man in Alkohol fixierte Fäden statt lebender benutzt.

Weiter versuchte ich, ob sich auch andere basische Farbstoffe dem Methylenblau ähnlich verhalten. Besonders gute und denen mit Methylenblau ganz analoge Resultate liefert Toluidinblau, das vorwiegend für die weiteren Untersuchungen benutzt wurde. Aber auch Neutralrot zeigt nach H_2SO_4-Zugabe viele gefärbte Körperchen, von denen die größeren keine homogene Durchfärbung zeigen, sondern sich ebenso wie nach Toluidinblaufärbung in einen farblosen Kern und eine gefärbte periphere Schicht gliedern. Diese Beobachtung steht im Einklang mit den Angaben anderer Autoren (Elenkin und Danilov 1916, Poljansky und Petruschewsky 1929, Baumgärtel 1920). Chemisch sollen sich die beiden Schichten dadurch unterscheiden, daß die Metachromatinkörperchen in ihrem Zentrum aus Proteinen und in der Peripherie aus Nukleoglykoproteiden bestehen (Geitler 1926). Aber auch die typischen Plasmafärber lassen sich zur Färbung der Granula benutzen, nur daß hier außer den Metachromatinkörperchen auch die plasmatische Grundsubstanz noch nach der H_2SO_4-Zugabe gefärbt bleibt. Bei Chrysoidin sind die Granula orange und das Plasma gelb gefärbt. Die Kristallviolettfärbung hält sich nicht lange, da der Farbstoff reduziert wird. Zum Vergleich diente als saurer Farbstoff das Säurefuchsin, das mit H_2SO_4 nur eine intensive, undifferenzierte rote Plasmafärbung gibt. Bei allen benutzten Farbstoffen bleiben sowohl bei H_2SO_4- als auch bei KOH-Behandlung die Cyanophycinkörnchen farblos. Weiter war es von Interesse, zu prüfen, ob die elektive Färbung der Metachromatinkörperchen durch das Anion der Schwefelsäure oder durch ihre hohe Azidität bedingt wird. Daß das letztere wohl der Fall ist, geht daraus hervor, daß auch mit HCl und Toluidinblau eine elektive Färbung erreicht wird. Bei Benutzung von Phosphatpufferlösungen ist selbst bei p_H 2,8 noch immer eine Golgiapparat-ähnliche Blaufärbung des Zentroplasmas neben der Metachromatinkörperchenfärbung sichtbar. Erst nach Erhöhung der C_H durch HCl verschwindet die Färbung des Zentroplasmas.

Es erhebt sich nun die Frage, handelt es sich bei den Metachromatinkörperchen wirklich um präformierte Gebilde — wie wohl

die meisten Autoren annehmen — oder um durch den Farbstoff herbeigeführte Entmischungskörper des Plasmas (CHOLNOKY 1937) bzw. des in kleinen Vakuolen vorhandenen Zellsaftes (GUILLIERMOND 1925a u. f.). Nach GUILLIERMOND (1926) soll z. B. die Schwefelsäure nur einen durch den Farbstoff bedingten Entmischungsvorgang des Metachromatins beschleunigen.

Zur Entscheidung dieser Frage war es notwendig, die Metachromatinkörperchen in der lebenden Zelle ohne Anwendung von Vitalfarbstoffen sichtbar zu machen. Ich bediente mich dazu des Phasenkontrastverfahrens (KÖHLER und LOOS 1941). Im Phasenkontrastmikroskop heben sich in der lebenden *Oscillatoria limosa*-Zelle die auch normal sichtbaren Plasmaeinschlüsse besonders deutlich hervor. Es sind viele kleine Körnchen vorhanden, von denen man aber nicht sagen kann, ob sie zu den Cyanophycinkörnern gehören, oder ob sie präformierte Metachromatinkörperchen darstellen. Ein Vergleich mit dem nach Toluidinblau + H_2SO_4-Färbung erhaltenen Bild ergibt, daß im letzteren Fall die gefärbten Körperchen zum Teil größer und kompakter sind als die im Phasenkontrast sichtbaren.

Ein anderer Weg bestand darin, durch abwechselnde H_2SO_4- und KOH-Behandlung an ein und demselben Faden reversible Umfärbungen zu erzielen und dabei das Verhalten der Metachromatinkörperchen zu beobachten. Dazu wurde von Zellen, die nach Toluidinblau + H_2SO_4-Behandlung relativ wenig Metachromatinkörperchen enthielten, mit dem Zeichenapparat eine Lageskizze der Körner entworfen. Dann saugte ich die Farbstofflösung und die Schwefelsäure ab und gab KOH zu dem Präparat. Der Farbton der gefärbten Zellen schlägt hierbei sofort von violettblau nach rotviolett um. Die Metachromatinkörperchen entfärben sich und werden unsichtbar, der Farbstoff geht in das Zentroplasma und bedingt eine Golgiapparat-ähnliche Färbung. Wird die Kalilauge jetzt wieder durch farblose Schwefelsäure ersetzt, ist der umgekehrte Vorgang zu beobachten. Das Zentroplasma entfärbt sich, die Metachromatinkörperchen werden wieder violettblau gefärbt sichtbar, und zwar an denselben Stellen, an denen sie sich auch vor der KOH-Behandlung befanden, allerdings sind sie bedeutend kleiner geworden. Dies stimmt mit den Befunden von POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY (1929) überein. Hierdurch ist wohl eine gewisse Beständigkeit der Metachromatinkörperchen nachgewiesen, aber noch nicht ihr Vorhandensein vor der ersten Toluidinblaufärbung. Vor einer weiteren Schlußfolgerung aus den geschilderten Versuchsergebnissen soll erst noch das Verhalten der *Oscillatoria Borneti* beschrieben werden.

Nach der Behandlung lebender und auch in Alkohol fixierter Fäden von *Oscillatoria Borneti* mit Methylen- bzw. Toluidinblau + H_2SO_4

fällt im Vergleich mit den anderen untersuchten *Oscillatoria*-Arten wieder die große Armut an Metachromatinkörperchen auf, die meisten Fäden bleiben überhaupt farblos. In jedem Präparat sind nur einzelne Fäden, die wenige und relativ kleine Metachromatinkörperchen in den Zellen führen. Die Zellen ein und desselben Fadens verhalten sich aber in bezug auf Anzahl und Größe der Metachromatinkörperchen sehr gleichartig.

Bei KOH-Zugabe zu den mit Methylen- oder Toluidinblau gefärbten Fäden ist im allgemeinen eine violette Membranfärbung und eine diffuse, blauviolette Färbung der zentralen und peripheren Plasmastränge zu beobachten. Ein Golgiapparat-ähnliches Gebilde ist hier im zentralen Teil nie zu sehen; nur in einigen Fällen zeigt das zentrale Plasma eine mehr granulierte Färbung.

Sehr deutlich tritt die ganze Zellstruktur der *Oscillatoria Borneti* im Phasenkontrastmikroskop hervor. Die Plasmastränge heben sich grau von den hell bleibenden Vakuolen ab, und besonders gut, da am dunkelsten, kommen die Plasmaeinschlüsse zur Darstellung. Das ist ein großer Vorteil gegenüber dem normalen Mikroskop, wo häufig schwer zu entscheiden ist, ob es sich um Granula oder um kleine Vakuolen handelt. Das Plasma zeigt in seinen dichteren Teilen sehr schaumige Struktur. Auch im Phasenkontrast erscheinen die Vakuolen völlig homogen, und es bestätigt sich der geringe Gehalt der Zellen an Plasmaeinschlüssen. Viele Fäden scheinen vollkommen frei von irgendwelchen Granula zu sein.

In einer Kultur von *Oscillatoria Borneti* in Leitungswasser, deren Flüssigkeit fast vollständig verdunstet war, besaßen die noch lebenden Algenfäden ein sehr kleinvakuoliges Plasma und führten reichlich Granula. Eine Prüfung mit Methylenblau + H_2SO_4 ergab, daß es sich bei den Granula ausschließlich um Cyanophycinkörner handelte; denn in keiner Zelle der zahlreichen Fäden konnten Metachromatinkörperchen sichtbar gemacht werden. Bei Zugabe von Methylenblau + KOH entstanden aber in diesen Zellen viele kleine violettrote Körnchen, während die präformierten Granula farblos blieben. Neutralrot färbte die vielen kleinen Vakuolen mit sehr unterschiedlicher Intensität. Nach Zuführung von H_2SO_4 zu dem vitalgefärbten Präparat erschienen am Rand der sich allmählich entfärbenden Vakuolen viele, sehr kleine, intensiv gefärbte Körnchen. Auch in diesem Fall nehmen die präformierten Granula keinen Farbstoff auf. Damit ist der Beweis erbracht, daß unter bestimmten Bedingungen die Möglichkeit besteht, daß durch Entmischungsvorgänge intensiv gefärbte Granula de novo entstehen können.

Gegen die Annahme Guilliermonds, daß es sich bei den Metachromatinkörperchen immer um durch den Farbstoff verursachte

Metachromatinniederschläge in Vakuolen handelt, spricht die Tatsache, daß nach Neutralrotbehandlung Fäden der *Oscillatoria Borneti* mit gleich starker Vakuolenfärbung nach H_2SO_4-Zugabe nur zum Teil Metachromatinkörperchen aufweisen, während der andere Teil sich vollständig entfärbt. Da nach GUILLIERMOND die vitale Färbbarkeit der Vakuolen ja auf ihrem Metachromatingehalt beruht, wäre zu fordern, daß die Schwefelsäure in allen gefärbten Zellen eine Entmischung der Metachromatinkörperchen herbeiführt. Mit der Anschauung GUILLIERMONDS scheint zunächst auch die deutliche Zweischichtigkeit der größeren Metachromatinkörperchen im Widerspruch zu stehen, von der man meinen möchte, daß sie wohl kaum durch einen einfachen Entmischungs- oder Niederschlagsvorgang entstanden sein könnte (s. aber S. 192).

Bei einem Vergleich der im Phasenkontrast zu sehenden Granulaverteilung mit dem nach Toluidinblau + H_2SO_4-Färbung erhaltenen Bild scheinen bei *Oscillatoria Borneti* auch präformierte Granula die Metachromatinkörperchenreaktion zu geben, so daß ich es für am wahrscheinlichsten halte, daß die nach Färbungen sichtbaren Körperchen sowohl präformierte Granula als auch Entmischungstropfen sein können.

Da bei der Metachromatinkörperchenfärbung eine elektrostatische Adsorption des Farbstoffes vorliegt, wie aus den Umfärbungsversuchen mit H_2SO_4 und KOH hervorgeht, können wir aus dem Färbungsergebnis auf den elektrischen Ladungssinn dieser Körperchen schließen. Danach ist ihre Substanz immer negativ geladen, selbst bei p_H 0,7 (H_2SO_4) besitzen die Körperchen noch eine große Affinität für das kathodische Toluidinblau. Diese Erscheinung dürfte bis jetzt bei pflanzlichen Zellen einzig dastehen; denn die tiefsten isoelektrischen Punkte pflanzlicher Bestandteile finden wir einmal beim Karyotin des Ruhekerns mit p_H 2,5—3,7 (DRAWERT 1937) und zum anderen Mal bei der Zellwand, wo er, trotzdem diese vorwiegend aus negativ geladener Zellulose besteht, nur den Wert von p_H 3 bis herab zu 2—2,2 (Blattunterseite von *Helodea canadensis* nach DRAWERT 1937) erreicht. Die plasmatische Grundsubstanz unterscheidet sich dagegen mit einem IEP zwischen p_H 4—5 kaum von dem Zytoplasma der höheren Pflanzenzelle.

Zum Schluß dieses Abschnittes möchte ich noch darauf hinweisen, daß man nicht bei allen Cyanophyceen nach Methylenblaufärbung, verbunden mit einer H_2SO_4- und KOH-Behandlung, die hier für verschiedene *Oscillatoria*-Arten beschriebenen Bilder erhält. Als Beispiel soll das Verhalten einer *Tolypothrix*-Art geschildert werden. Hier gab es bei Methylenblau + H_2SO_4-Behandlung neben Fäden mit zahlreichen Metachromatinkörperchen auch solche, deren Zellen nur einen großen,

blauen Tropfen enthielten, der keinen farblosen Kern aufwies wie die größeren Metachromatinkörperchen und auch nach KOH-Zugabe erhalten blieb. Meist führte KOH hier zu einer diffusen, violetten Plasmafärbung, nur in einigen Fäden war das Zentroplasma durch eine etwas intensivere, retikulumartige Färbung hervorgehoben und in anderen Fäden gerade umgekehrt durch eine große, blasse, zentrale „Blase" ausgezeichnet. Hier kommt auch häufig nach der H_2SO_4-Behandlung das Zentroplasma deutlicher durch ein blaugefärbtes, chromosomenartiges Netz, das sich gut vom schwach violetten oder ganz farblosen Plasma abhebt, heraus.

Auch für die Postvital- und Fixierungsfärbung gilt also der von Becker und Beckerowa (1937) für die Vitalfärbung der Cyanophyceen aufgestellte Satz, daß die Färbung der Fäden weitgehend von unbekannten physiologischen Zuständen abhängig ist.

IV. Fluoreszenzoptische Untersuchungen.

Während man bei den meisten *Oscillatoria*-Arten ein schwächer gefärbtes Zentroplasma sich von dem pigmenttragenden Chromatoplasma abheben sieht, sind bei *Oscillatoria Borneti* alle Plasmastränge der Zelle so farbschwach, daß auf Grund der natürlichen Färbungsintensität keine Unterscheidung zwischen Zentro- und Chromatoplasma möglich ist. *Oscillatoria Borneti* stellt also gewissermaßen das Gegenstück zu *Chroococcus turgidus* dar. Man könnte höchstens mit Geitler auf Grund der verschieden starken Vakuolisierung zwischen einem Zentro- und einem Chromatoplasma unterscheiden. Ich halte das aber nicht für zulässig, solange nicht nachgewiesen ist, daß die natürlichen Farbstoffe wirklich nur in den peripheren Plasmasträngen lokalisiert sind. Man dürfte also höchstens von einem zentralen und einem peripheren Plasma sprechen. In ihrem Vakuolisationsgrad unterscheiden sich aber peripheres und zentrales Plasma nicht immer gleichsinnig, da je nach dem physiologischen Zustand und den Kulturbedingungen manchmal das eine, manchmal das andere stärker vakuolisiert ist. Ich versuchte deshalb mit Hilfe der Chlorophyllfluoreszenz zu entscheiden, ob hier eine Trennung in farbloses Zentroplasma einerseits und Chlorophyll- sowie die anderen Farbstoffe tragendes Chromatoplasma andererseits durchführbar ist.

Die normalen *Oscillatoria*-Arten wie *Oscillatoria splendida*, *Oscillatoria sancta* zeigen im Fluoreszenzmikroskop eine schöne, blutrote Chlorophyllfluoreszenz. Diese Fluoreszenz ist nicht ganz homogen über die Zelle verteilt, sondern stärker fluoreszierende Felder liegen neben schwächer leuchtenden Flächen. Ob nur einzelne Grana fluoreszieren, wage ich bei den von mir bis jetzt geprüften Arten noch nicht

zu entscheiden. Ein besonderes Abheben des Zentroplasmas ist im Fluoreszenzmikroskop nicht zu erkennen.

Auch *Oscillatoria Borneti* besitzt sehr schöne Fluoreszenz, wenn auch nicht so intensive wie die stärker gefärbten Arten, und das rote Fluoreszenzlicht hat auch mehr einen Stich ins Gelbliche. Bei stärkerer Vergrößerung ist deutlich zu erkennen, daß nur die Plasmafäden leuchten, und zwar in allen Teilen der Zelle mit gleicher Farbtiefe; daraus ist zu schließen, daß die Pigmente über das gesamte Plasma der Zelle verteilt sind, und daß eine Trennung von farblosem Zentroplasma und Chromatoplasma nicht durchführbar ist. Man kann dieser Schlußfolgerung entgegenhalten, daß ja auch bei den normalen Oscillatoriaceen, die im Hellfeld deutlich eine Differenzierung in farbloses Zentroplasma und Chromatoplasma besitzen, dies im Ultraviolettlicht nicht mehr erkennen lassen. Ich glaube aber, daß das hier nicht so sehr ins Gewicht fällt, sondern das Ausschlaggebende ist die Tatsache, daß man bei der *Oscillatoria Borneti* jeden einzelnen Plasmastrang im Fluoreszenzmikroskop verfolgen kann, während man bei den anderen Formen nur zusammenhängende, leuchtende Flächen sieht. Auch GEITLER (1936, S. 6) betont schon, daß das bisher herrschende Dogma von der ausschließlichen Lokalisation der Assimilationsfarbstoffe im Chromatoplasma wenigstens für manche Objekte fallengelassen werden muß. Und nach STROH (1938) erscheint bei in Queransicht liegenden einzelnen *Oscillatoria*-Zellen das Zentroplasma schwach grün gefärbt.

Außer der Chlorophyllfluoreszenz ist bei *Oscillatoria Borneti* noch eine intensive orangenfarbige Membranfluoreszenz besonders der Querwände zu erkennen. Alkoholfixierte und auch mit Eau de Javelle behandelte Fäden weisen dagegen eine schwache hellgrüne Fluoreszenz der Membranen auf. Sehr plasmaarme Zellen leuchten häufig ebenso wie tote Konkavzellen bläulich-weiß. Kurz zuvor abgestorbene Zellen mit etwas kontrahierten Protoplasten besitzen eine homogenere und intensivere rote Chlorophyllfluoreszenz als die lebenden Zellen.

V. Feulgens Nuklealreaktion.

Da die fluoreszenzoptische Analyse keine Unterscheidung zwischen einem besonderen farblosen Zentroplasma und einem Chromatoplasma ermöglichte, war es von Interesse, mit der Nuklealreaktion zu prüfen, ob *Oscillatoria Borneti* einen nur auf das Zentroplasma beschränkten Chromidialapparat besäße.

Nach POLJANSKY und PETROSCHEWSKY (1929) zeigen alle untersuchten *Cyanophyceen* mit der Nuklealreaktion nur im Zentralkörper eine netzartige Färbung. Bei einer *Cylindrospermum*-Art besitzt der Zentralkörper ein Gerüst feiner Körner und Fäden, die nuklealpositiv

reagieren (NEUMANN 1930), *Phormidium*-Arten ergeben im Zentroplasma eine prächtige positive Reaktion in Form von mehr oder weniger anastomosierenden parallelen Fäden (PETTER 1933), und GONÇALVES DA CUNHA (1935) beschreibt für mehrere Blaualgenarten eine positive Reaktion in Gestalt einer sehr feinen Granulation. Für *Oscillatoria tenuis* gibt SPEARING (1937) eine positive Nuklealreaktion an. Die Färbung war aber zu schwach für ein detailliertes Studium des Chromidialapparates; und an *Schizothrix Mülleri* sowie *Spirulina versicolor* erzielte DELAPORTE (1940a und b) eine positive Reaktion in Form eines Fadenknäuels im Zentralkörper bzw. eines axialen Stranges.

Eigene mit verschiedenen *Oscillatoria*-, *Anabaena*- und *Tolypothrix*-Arten durchgeführte Versuche ergaben nach 5—10 Min. Hydrolysezeit eine sehr gute positive Reaktion. Einheitlich war in allen untersuchten Arten im Zentroplasma eine netzartige Färbung des Chromidialapparates zu erkennen, die der nach Methylen- oder Toluidinblau + KOH-Behandlung erhaltenen Golgiapparat-artigen Färbung sehr ähnlich war. Am besten stimmten die erhaltenen Bilder mit den von POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY (1929) wiedergegebenen Reproduktionen überein.

Oscillatoria Borneti zeigte dagegen nicht diese streng begrenzte netzartige Färbung, sondern in Zellen mit dickerem zentralem Plasmastrang erschienen rot gefärbte Knöpfe, die aus kleinen Haufen schwach gefärbter Granula bestanden, und Zellen mit zarterer Plasmakonfiguration enthielten nur verstreut zart gefärbte kleine Körnchen. Bei einem Teil der Fäden verlief die Reaktion überhaupt ganz negativ, während die anderen untersuchten Cyanophyceen-Arten immer positive Ergebnisse lieferten.

Zur Kontrolle wurden in Alkohol fixierte *Anabaena*, *Tolypothrix* und *Oscillatoria* unhydrolysiert für 30 Min. mit fuchsinschwefliger Säure behandelt, mit SO_2-haltigem Wasser ausgewaschen und in Leitungswasser beobachtet (SCHIFFsche Reaktion). *Tolypothrix* zeigt jetzt entweder einen großen, intensiv rot gefärbten Körper in Tropfenform oder viele kleinere, ebenso gefärbte Körperchen. Manche Fäden sind auch vollständig farblos. Man erhält dasselbe Bild wie nach einer Methylenblau + KOH-Behandlung (s. S. 178). Es handelt sich also wohl ohne Zweifel um Metachromatinkörperchen, zumal auch PETTER (1933) für Metachromatinkörner in Hefen, Diatomeen, Cyanophyceen und *Sarcina gigantea* eine Färbung mit dem SCHIFFschen Reagens anführt. Im Gegensatz zu den anderen Cyanophyceen färbt bei *Oscillatoria Borneti* die fuchsinschweflige Säure das ganze Plasma in allen Fällen diffus schwach rot.

VI. Polarisationsoptische Untersuchungen.

Wie in der Einleitung erwähnt (S. 162), bestehen in der Literatur sich widersprechende Angaben über das Verhalten der Cyanophyceen-Zellwände im polarisierten Licht. Durch die Untersuchungen von ULLRICH (1929) dürfte allerdings wohl jeder Zweifel an den doppelbrechenden Eigenschaften, besonders der Querwände, beseitigt sein. Meine eigenen Untersuchungen mit lebenden Zellfäden von *Oscillatoria Borneti* brachten ein den Befunden von ULLRICH vollkommen entsprechendes Ergebnis. Längs- und Querwände zeigen gute Doppelbrechung. Die Intensität der Doppelbrechung der Querwände ist sehr verschieden und hängt wahrscheinlich von dem Alter derselben ab. Je älter die Querwand, desto stärker ist die Doppelbrechung. Auch die noch unvollständigen neuen Querwände besitzen schon eine schwache Doppelbrechung. So wechseln im Polarisationsmikroskop immer in bestimmten Intervallen stärker und schwächer leuchtende Querwände ab; es ergibt sich das von ULLRICH 1929, S. 186 in den Abb. 14 und 15, für *Oscillatoria sancta* dargestellte Verhalten.

Da ULLRICH die stärkere Doppelbrechung der Querwände an der von ihm untersuchten *Oscillatoria sancta*, trotz negativ verlaufener Reaktionen mit Chlorzinkjod und Jod + H_2SO_4, auf Zelluloseeinlagerung zurückführt, prüfte ich das Verhalten der Zellwände von *Oscillatoria Borneti* gegenüber diesen Reagentien. Mit Chlorzinkjod konnte selbst nach einem Aufenthalt von 7 Tagen in der Lösung keine Zellulosereaktion erhalten werden. Die Membranen waren nur stark verquollen und zeigten im Polarisationsmikroskop keine Anisotropie mehr. Dasselbe negative Ergebnis erhielt ich auch mit Jod + H_2SO_4. In bezug auf die widersprechenden Angaben in der Literatur über die Löslichkeit der Wände in konzentrierter H_2SO_4 (s. S. 162) ist es erwähnenswert, daß die Membranen von *Oscillatoria Borneti* auch nach mehrtägiger Einwirkung von H_2SO_4 keine Veränderungen zeigten. Ebenso lösen sich die Zellwände nicht in Eau de Javelle normaler Konzentration. Eine Lösung erzielte ich aber, wenn in einem Präparat die verdunstende Flüssigkeit immer wieder durch Eau de Javelle ersetzt wurde. Jedoch soll gleich darauf hingewiesen werden, daß sich die Zellwände anderer untersuchter Cyanophyceen sehr leicht in normaler Eau de Javelle lösen.

In Übereinstimmung mit WEBER (1939) konnte ich im peripheren Plasma im Gegensatz zu Befunden von BECKER (1937) keine Doppelbrechung beobachten.

VII. Verhalten der Fäden in hypertonischen Lösungen.

1. Literaturübersicht.

So kontrovers die Angaben über den Besitz der *Cyanophyceen*-Zelle an echten Vakuolen ist, so widersprechend sind auch die Berichte über die Fähigkeit des Blaualgenprotoplasten zur echten Plasmolyse.

Eine normale Plasmolyse mit allseitiger Loslösung des Protoplasten erhielt nur FISCHER (1897) in 5% KNO_3. Das Auftreten konvexer Formen gibt dann noch CHOLNOKY (1937) beim Übergang von der Plasmolyse zur Deplasmolyse an. Sonst wird allgemein hervorgehoben, daß wohl Plasmolyse zu beobachten ist, aber dabei keine allseitige Loslösung des Plasmas von der Wand erfolgt, also nur Konkav- und Krampfplasmolyseformen in Erscheinung treten. Unter dieser Einschränkung beschreiben Plasmolysen bei Cyanophyceen BRAND (1903), PRAT (1921, 1925), SCHMID (1921, 1923), GEITLER (1926), CHOLNOKY (1937), MÜHLDORF (1937, 1938), STROH (1938), auch ELO (1937), allerdings nur für Harnstoff und Malonamid. An *Scytonema Julianum* und *Scytonema javanicum* hebt SCHÖNLEBER (1936, 1937) die leichte Plasmolysierbarkeit hervor. Die Anwendung enorm hoher Konzentrationen zu Erzielung einer Plasmolyse betonen BRAND (1903) und SCHMID (1923). Andere Autoren unterscheiden die Kontraktion der Cyanophyceenprotoplasten in hypertonischen Medien als „Schrumpfung" von der Plasmolyse der höheren Pflanzenzelle (KOHL 1903 , KRENNER 1925). Jede Zurückziehung des Plasmas von der Wand leugnet BORZI (1886). Weiter konnten in den meisten Fällen FECHNER (1915), KLEBAHN (1922), ULLRICH (1929) und ELO (1937) keine einwandfreie Ablösung des Protoplasten von der Wand beobachten, und auch KÜSTER (1943) spricht nur von einer Deformation der Zellen.

Auf die Abhängigkeit der Plasmolysierbarkeit der Zellen von der Entwicklung eines Zellsaftraumes weist KÜSTER (1929, S. 36) im Zusammenhang mit der Zellstruktur bei den *Rivularien* hin. Hier zeigen die plasmareichen Zellen am Fußende eines Fadens keine Plasmolyse, während die langgestreckten, schmalen, zellsaftreichen Zellen des peitschenschnurähnlichen Endes eine deutliche Trennung des Zellinhaltes von der Membran erkennen lassen. Andererseits ergeben aber nach PRAT (1925) auch die stark vakuoligen Zellen alter Kulturen von *Tolypothrix* keine normalen Plasmolyseformen. KOHL (1903) betont, daß die Cyanophyceenzellen kein osmotisches System wie andere mit Vakuolen ausgerüstete Pflanzenzellen darstellen, so daß sie gar keine echte Plasmolyse, sondern nur eine „Schrumpfungsplasmolyse" durchführen können. Diese Annahme weist FISCHER (1905) mit der Begründung zurück, daß für ein plasmolysierbares osmotisches System nicht die Vakuole, sondern eine semipermeable Hautschicht das Entscheidende ist. Daß KÜSTER auch geneigt ist, bei einer auf reiner Entquellung beruhenden Kontraktion des Protoplasten von einer Plasmolyse zu sprechen, geht aus Hinweisen seiner Schülerin SCHÖNLEBER (1936) hervor, die schreibt: „Da *Scytonema Julianum* vakuolenfrei ist, kann die Plasmolyse nach KÜSTER auf eine Entquellung des Plasmas zurückgeführt werden."

Außer durch das Fehlen eines Vakuolensystems soll die unvollständige Plasmolyse der Blaualgenzelle durch die hohe Viskosität des Plasmas verursacht werden. Auch die große Elastizität der Membran und eine feste Verbindung zwischen Plasma und Zellwand werden zur Erklärung herangezogen (BRAND 1903, MÜHLDORF 1938). Nach CHOLNOKY (1937) soll nur die hohe Adhäsion des Plasmas an den Wänden verbunden mit einer Semipermeabilität der letzteren für die unvollständige Plasmolyse verantwortlich sein, da von einer höheren Viskosität des Blaualgenplasmas kaum die Rede sein könne; denn die Leichtigkeit der Plasmolyse und das Bestreben nach einer Abrundung seien unverkennbar, aber die mitgezogene Wand verhindere das Entstehen komplett konvexer Plasmolyseformen.

Auffallend ist der meist sehr schnelle Rückgang der Plasmolyse für die meisten bisher geprüften Stoffe (BRAND 1903: KNO_3, 20% Glyzerin dringt in die Zellen von *Phormidium* so schnell ein, daß nach $^1/_3$ Min. Deplasmolyse eingetreten ist; PRAT 1921, SCHMID 1923 für Rohrzucker, Harnstoff u. a., SCHÖNLEBER 1936, 1937, Plasmolyserückgang bei *Scytonema Julianum* in 2n KNO_3 binnen 5 Min., aber in 50% Rohrzucker war noch nach 5 Tagen echte Plasmolyse zu beobachten;

STROH 1938 konzentriertes Nordseewasser, Glyzerin; 50% Harnstoff wird so schnell von den *Oscillatoria proboscidea*-Zellen aufgenommen, daß es zu gar keiner Plasmolyse kommt).

Weiter ist bemerkenswert der starke Längenverlust von Blaualgenfäden beim Eintrocknen oder nach Übertragung in hypertonische Medien und die sehr rasche Wiederausdehnung bei Wasserzugabe. Diese Eigenschaft ist dabei nicht nur auf lebende Fäden beschränkt; so erwähnt HANSGIRG (1883), daß altes Herbarmaterial, das ganz trocken lag, nach Wasserzugabe sofort wieder voll turgeszent wurde. Die auftretenden Verkürzungen können ganz beträchtlich sein, wie folgende Werte zeigen. Nach HANSGIRG (1883) verliert ein *Oscillatoria*-Faden von 195 μ Länge beim Eintrocknen 39 μ, und SCHMID (1923) gibt für die Entspannung von *Oscillatoria Jenensis* beim Eintrocknen eine Abnahme der Turgordehnung in der Längsrichtung um 16,7—20,8% an. Von entsprechender Größenordnung sind die durch hypertonische Lösungen erreichten Längenverluste; so verkürzte sich nach BRAND (1903) ein Algenfaden ohne ausgesprochene Plasmolyse von 125 μ auf 91 μ, und *Oscillatoria limosa* verlor in 1 mol $Ca(NO_3)_2$ 20—30% an Länge bei nur bescheidener Dickenabnahme (KÜSTER 1943).

Aus dem Ausbleiben bzw. dem schnellen Rückgang einer Plasmolyse wird auf eine rasche Aufnahme der osmotisch wirksamen Stoffe geschlossen. Auf Grund dieser Erscheinung war zu erwarten, daß man bei den Cyanophyceen durch Übertragung der deplasmolysierten Fäden in reines Wasser leicht eine Plasmoptyse müßte herbeiführen können. Um so überraschender sind die spärlichen Angaben über nur in Ausnahmefällen beobachtete Plasmoptysen (BRAND 1903, STROH 1938), während sonst alle Versuche Plasmoptyse zu erzwingen, fehlschlugen (SCHMID 1923, LANZ 1938). Nur bei Anwendung konzentrierter H_2SO_4 konnte SCHMID (1923) noch in der Schwefelsäure selber nach einer anfänglichen Verkürzung eine Verlängerung der Fäden um 6,9—11% und anschließendes Platzen derselben beobachten.

Wir müssen aus der starken Turgordehnung der Blaualgen einmal auf eine sehr elastische Membran und zweitens auf einen hohen Turgor schließen. Um so bemerkenswerter ist der niedrige osmotische Wert des Zellinhaltes, dessen genaue Messung allerdings auf Schwierigkeiten stößt, weil das Plasma sich schwer von der Wand ablöst. So hebt schon BRAND (1903) hervor, daß die Cyanophyceen zur Erzielung osmotischer Wirkungen öfters stärkere Konzentrationen bedürfen als die Grünalgen. In der Literatur sind folgende auf verschiedenem Wege gefundenen „plasmolytischen" Grenzkonzentrationen zu finden. PRAT (1921, 1925), der unter osmotischer Grenzkonzentration die Konzentration versteht, in der eine Plasmolyse innerhalb einer Minute wieder vollständig verschwunden ist, gibt für *Oscillatoria*- und *Phormidium*-Arten 0,9 bis 1,5% NaCl, 1,6—1,8% KNO_3 und 10—13% Rohrzucker an; das entspräche 7—10 Atm. Für *Gloiotrichia* erwähnt KLEBAHN (1922) einen osmotischen Druck von 8% Rohrzucker = 5—6 Atm. Bei *Oscillatoria Jenensis* liegt die „plasmolytische" Grenzkonzentration nach SCHMID (1923) bei 0,029 mol Rohrzucker = 0,65 Atm.; SCHMID verfolgte die Verkürzung der Fäden in verschieden konzentrierten Zuckerlösungen. KRENNER (1925) erhielt folgende „Grenzschrumpfungswerte": *Oscillatoria Fröhlichii* 24% Rohrzucker = 16,63 Atm., *Oscillatoria curviceps* 28% = 19,4 Atm. und *Oscillatoria tenuis* 37—37,5% = 25,98 Atm. Endlich bestimmte SCHÖNLEBER (1937) durch Grenzplasmolyse bei *Scytonema Julianum* einen Wert von 0,15—0,2 n NaCl = um 6 Atm. Mit Ausnahme der Angaben von SCHMID entsprechen diese Werte den an anderen Algen grenzplasmolytisch gefundenen Resultaten (*Spirogyra* 8,7—10,5 Atm., *Rhizoclonium* 17,5—21 Atm., *Synedra* 10,5 Atm. nach BOTTAZZI aus WALTER 1931, S. 16), nur daß letztere wohl eine schwächere Turgordehnung als die Blaualgen aufweisen.

Die „grenzplasmolytisch" gefundenen Werte stimmen ganz gut überein mit den Angaben über die Grenzkonzentrationen, bei denen eine Entwicklung der Cyanophyceen auf künstlichen Nährböden zum Stillstand kommt. Das wären folgende Werte: 1—2% $Ca(NO_3)_2$ (HARDER 1917b), 10% Rohrzucker = 8 Atm. (HARDER 1917a) bzw. im Dampfraum über einer Kochsalzlösung von 0,18—0,20 mol NaCl = 7,6—8,39 Atm. (MÄGDEFRAU 1931). Auch die Grenzwerte für die Beweglichkeit einer *Oscillatoria* in Abhängigkeit von dem osmotischen Wert des umgebenden Mediums mit 10—12,5% Rohrzucker (SCHMID 1923) oder 1% NaCl bzw. 13% Zucker = 8,2—10,6 Atm. (PRAT 1925) stehen damit in Einklang.

Dabei ist aber hervorzuheben, daß es sich bei den Cyanophyceen kaum um eine echte Plasmolyse handelt, so daß es fraglich ist, ob man überhaupt auf grenzplasmolytischem Wege den osmotischen Wert des Zellinhaltes bestimmen kann (s. S. 197). Auffallend sind jedenfalls die Unterschiede zwischen den grenzplasmolytisch gefundenen Zahlen und den mit der Verkürzungsmethode von SCHMID (1923) erhaltenen Werten (s. dazu S. 198).

2. *Eigene Versuchsergebnisse.*

Auf Grund der starken Vakuolisation des keritomisch veränderten Plasmas von *Oscillatoria Borneti* war eine normale Plasmolyse zu erwarten. Allerdings wissen wir bis jetzt noch nichts über den Viskositätsgrad des Vakuoleninhaltes. Wie die folgenden Ergebnisse belegen, erfüllten sich aber die gehegten Erwartungen nicht.

a) Elektrolyte. Nach Zugabe von 1 mol NaCl oder KNO_3 verkürzen sich die Fäden und nur wenige Zellen zeigen eine schwache Abhebung des Protoplasten von der Wand, die aber bald zurückgeht. Auch bei einer 3 mol NaCl-Lösung ist das Ergebnis nicht anders. Die Zellen zeigen zum Teil Krampfplasmolyse, die rasch zurückgeht. Viele Protoplasten haben sich aber in ihrer Form auch nicht geändert, nur ihre vakuolige Konfiguration hat einer kompakteren, granulierten Struktur Platz gemacht. In dem Augenblick der Benetzung der Fäden mit der 3 mol NaCl-Lösung kann man eine leichte Zerknitterung der Fäden beobachten. Um das Verhalten der Vakuolen besser beurteilen zu können, wurden mit Neutralrot vital gefärbte Fäden mit 1 mol NaCl behandelt. Nach Zutritt der Salzlösung bleiben viele Zellen unverändert, andere weisen eine krampfartige Plasmolyse auf, und in ihren Protoplasten sind die Umrisse der Vakuolen nicht mehr deutlich. Daß die Vakuolen aber noch vorhanden sind, ist an ihrem jetzt tieferen Farbton zu erkennen. Nach Zugabe von Leitungswasser dehnen sich die Fäden und damit auch die Zellen wieder rasch aus, dabei entfärben sich aber die Vakuolen augenblicklich, das Plasma nimmt den austretenden Farbstoff auf, und es entstehen größere und viele kleine Entmischungstropfen. Die letzteren vollführen eine lebhafte BROWNsche Molekularbewegung, wie sie in den normalen, lebenden Zellen nie zu beobachten ist. Wahrscheinlich hat sich der Vakuoleninhalt in einen Sol- und einen Gelteil getrennt. Nochmalige

NaCl-Zugabe bewirkt ein schwaches Schrumpfen und völlige Entfärbung der Fäden.

In einer 1 mol $CaCl_2$-Lösung schrumpfen und zerknittern die Fäden etwas stärker als in 3 mol NaCl, aber die Rückdehnung der Membran erfolgt hier auch so rasch, daß man nur im Augenblick der $CaCl_2$-Zugabe die Zerknitterung der Fäden wahrnehmen kann. Die Protoplasten hinken der Membran in der Wiederausdehnung etwas nach, einige behalten die Krampfplasmolyse auch länger bei. Nach 30 Min. füllen aber alle Protoplasten das Zellumen wieder aus. $CaCl_2$ bewirkt sofortige Aufhebung der Keritomie und nach 13 Stunden weisen die Protoplasten eine schwache Konvexkontraktion auf. Nach 24 Stunden hat sich das Bild nicht geändert, und nach Zugabe von Leitungswasser bleibt die sekundäre Protoplastenkontraktion erhalten.

Werden mit Neutralrot vital gefärbte Fäden mit 1 mol $CaCl_2$ benetzt, so kontrahieren sich einzelne Protoplasten — meist paarweise — und lösen sich von den Wänden, bevorzugt von den Längswänden. Viele Zellen zeigen aber auch keine Veränderung. Die kontrahierten, heterogen gefärbten Protoplasten dehnen sich ruckartig wieder aus, lassen noch ganz kurz Vakuolenfärbung erkennen, entfärben sich aber dann sehr schnell. Auch die Vakuolen der zunächst unverändert erscheinenden Zellen geben den Farbstoff recht bald ab, und eine granulierte Plasmafärbung wird sichtbar.

In 1 mol $Al(NO_3)_3$ schrumpfen und zerknittern die Fäden bedeutend stärker als in den bis jetzt untersuchten Salzen. Bei Benetzung der Fäden mit der $Al(NO_3)_3$-Lösung „schnurren" diese richtig zusammen. Weiter beharren zum Unterschied von den bisher geprüften Salzen die Algen in dem zerknitterten Zustand. Selbst nach 14 Stunden ist noch keine Rückdehnung erfolgt. Wird kurz nach der $Al(NO_3)_3$-Zugabe die Salzlösung wieder durch Wasser ersetzt, so dehnen sich die Fäden sofort wieder aus. Diese Ausdehnung beruht aber nur auf einer Streckung der Membranen. Die Protoplasten bleiben mit unregelmäßigen Formen stark kontrahiert in den Zellen liegen.

Da Kaliumrhodanid bei den Zellen der höheren Pflanzen zu einer starken Plasmaquellung führt, prüfte ich noch seinen Einfluß auf die *Oscillatoria*-Zellen. Nach Übertragung der Fäden in 1 mol KCNS verkürzen sich diese etwas, die Vakuolen werden undeutlich und das Plasma granuliert. Zugabe von Neutralrot bedingt nur eine schwache Plasmafärbung, so daß man wohl ein sofortiges Absterben der Zellen annehmen kann.

b) Anelektrolyte. Gleich nach dem Einlegen der *Oscillatoria*-Fäden in 1 mol Harnstoff ist an den sich verkürzenden Trichomen nichts Auffälliges zu bemerken. Allmählich werden aber die Umrisse der

Vakuolen undeutlich und nach 15 Min. zeigen die Zellen in einigen Fäden „Grenzplasmolyse", die nach weiteren 5 Min. in eine schwache Konvexplasmolyse übergeht. 75 Min. nach der Übertragung des Materials in die Harnstofflösung weisen die Zellen der meisten Fäden mehr oder weniger starke, konvexe Kontraktion der Protoplasten auf (Abb. 5). Aus den kontrahierten Protoplasten gehen die Begleitfarbstoffe des Chlorophylls heraus, so daß die Fäden jetzt schwach grasgrün gefärbt sind. Diese konvexe Protoplastenkontraktion ist irreversibel; denn sie bleibt auch nach Zugabe reinen Wassers unverändert erhalten.

Werden mit Neutralrot oder mit Methylenblau vital gefärbte Algen in 1 mol Harnstoff übertragen, so verkürzen sich die Fäden

Abb. 5. *Oscillatoria Boneti* in 1 mol Harnstoff: konvexe Kontraktion der Protoplasten. Vergr. 1000fach.

beträchtlich, und die Färbung der Vakuolen wird vorübergehend bedeutend intensiver, geht dann aber rasch zurück; das Plasma färbt sich mit größeren und kleineren Entmischungstropfen, die schwache Brownsche Molekularbewegung zeigen.

Eine anfängliche Zerknitterung der Membran kann in 1 mol Harnstoff nicht beobachtet werden, diese ist erst in einer 4-molaren Lösung ganz kurz zu bemerken.

Nach längerer Harnstoffeinwirkung beginnen sich zuerst an den Überkreuzungsstellen mehrerer Fäden die Membranen aufzulösen. Nach 2—3 Stunden ist die Membranauflösung weiter fortgeschritten, so daß die konvex kontrahierten Protoplasten frei im Präparat herumschwimmen. Diese isolierten Protoplasten besitzen steif gallertige Konsistenz. Durch leichten Druck mit der Präpariernadel auf das Deckglas lassen sie sich nicht deformieren.

Werden in Alkohol fixierte Fäden in 1 mol Harnstoff übertragen, so zeigen die Zellen noch nach 36 Stunden normales Aussehen ohne Membranauflösung. Läßt man die Algen auf einem Objektträger eintrocknen und gibt nach 22 Stunden 1 mol Harnstoff hinzu, so werden die Zellen genau wie bei Zutritt von reinem Wasser sofort wieder voll

turgeszent. Nach einiger Zeit lösen sich auch in diesem Fall die Membranen auf. Wird der Harnstoff nach Eintritt der Konvexkontraktion der Protoplasten durch reines Wasser ersetzt, noch bevor die Membranen eine Veränderung zeigen, setzt doch eine Zellwandauflösung und ein Zerfall der Fäden ein. Am längsten bleiben im allgemeinen die Querwände erhalten. Die sekundäre Konvexkontraktion und der Fadenzerfall unter der Harnstoffeinwirkung muß aber auch vom physiologischen Zustand der Zellen abhängen. So führte bei einer Probe selbst ein 24stündiger Aufenthalt in 1 mol Harnstoff trotz starker Konvexkontraktion der Protoplasten zu keiner Zellwandauflösung.

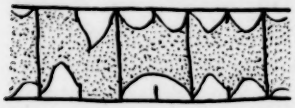


Abb. 6. *Oscillatoria Borneti* in 1 mol Traubenzucker: kontrahierte Protoplasten nach Rückdehnung der vorher zerknitterten Zellwände.

Zum Unterschied von Harnstoff bedingt 1 mol Traubenzucker ein „Zusammenschnurren" der Fäden wie 1 mol $Al(NO_3)_3$, aber im Gegensatz zu dem Aluminiumsalz dehnt sich die Wand zum Teil schon innerhalb von 5 Min. wieder aus. Die Protoplasten besitzen zunächst noch krampfartige Kontraktion (Abb. 6), schwellen aber dann zum Teil recht schnell wieder an; in anderen Zellen jedoch bleibt die Kontraktion lange erhalten. Die vakuolige Struktur des Plasmas ist nach der Glukoseeinwirkung nicht mehr vorhanden. In 2 mol wie in 0,5 mol Traubenzucker ist der gleiche Vorgang zu beobachten.

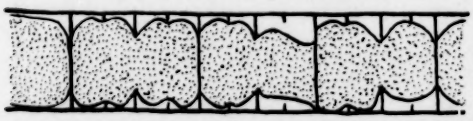


Abb. 7. *Oscillatoria Borneti* in 2 mol Traubenzucker. Beginn der sekundären, konvexen Kontraktion der Protoplasten.

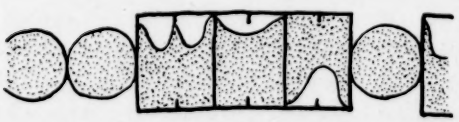


Abb. 8. *Oscillatoria Borneti* in 0,25 mol Traubenzucker. Ein Fadenstück mit konkaver und sekundärer, konvexer Plasmakontraktion. Nur von den Zellen mit konvex kontrahierten Protoplasten haben sich die Zellwände aufgelöst.

Wie bei Harnstoff tritt auch bei Glukose häufig eine sekundäre Konvexkontraktion der Protoplasten (Abb. 7) mit folgender Membranauflösung ein. Selbst 0,25 und 0,15 mol bewirken noch eine sekundäre Plasmakontraktion und Zellwandzerstörung. Daß es sich hierbei um einen Absterbevorgang handelt, geht aus dem Verhalten der mit Neutralrot vital gefärbten Zellen hervor. Auch die geringe Abhebung des Plasmas in 0,15 mol Glukose führt sofort zu einer Entfärbung der Vakuolen, und das Plasma sowie die Querwände nehmen den Farbstoff auf.

Wie Abb. 8 belegt, hängt die Auflösung der Zellwände von einer konvexen Kontraktion des Protoplasmas ab. Bei den Zellen, die eine konkave Plasmakontraktion beibehalten, bleiben die Zellwände noch

lange Zeit erhalten. Manchmal werden auch einzelne Querwände schneller zerstört als die Außenwände. In diesem Fall sind die zunächst noch erhalten gebliebenen Außenwände einzelner Fadenfragmente bestrebt, sich abzurunden, so daß Hohlkugeln entstehen, die häufig 2, 3 und mehr kontrahierte Protoplasten enthalten (Abb. 9). Bald lösen sich aber auch diese Restmembranen auf.

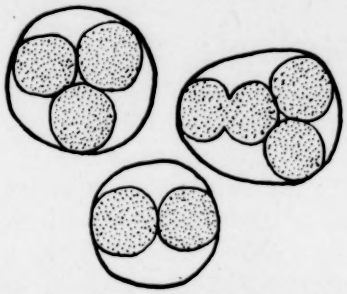


Abb. 9. *Oscillatoria Borneti* in 0,5 mol Traubenzucker. Nach Auflösung einer Anzahl Querwände und Zerfall des Fadens in einzelne Teilstücke haben sich die noch nicht angegriffenen Membranen der Fadenfragmente zu Hohlkugeln abgerundet, die die konvex kontrahierten Protoplasten enthalten.

Auch die mit Traubenzucker erhaltenen Ergebnisse werden stark von dem jeweiligen noch unbekannten physiologischen Zustand der Fäden beeinflußt. So zeigten z. B. die Algen einer Probe selbst nach 48stündiger Glukoseeinwirkung in einer 2molaren Lösung noch die in Abb. 10 skizzierte sanduhrförmige Kontraktion der Protoplasten

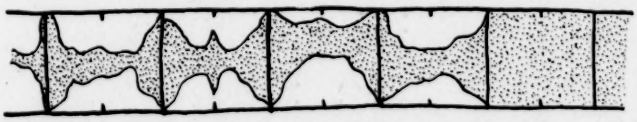


Abb. 10. *Oscillatoria Borneti* nach 48stündigem Aufenthalt in 2 mol Traubenzucker. Neben Zellen, deren Plasma sich wieder vollständig ausgedehnt hat, sind noch Zellen mit sanduhrförmig kontrahierten Protoplasten vorhanden. Die Zellwände zeigen keine Veränderung.

neben Zellen, deren Plasma sich inzwischen wieder ausgedehnt hatte. Eine sekundäre Konvexkontraktion des Plasmas und eine Membranauflösung waren nicht zu bemerken.

c) Bestimmung der Saugkraft von Oscillatoria Borneti. Zur Bestimmung der Saugkraft benutzte ich die von SCHMID (1923) bei *Oscillatoria Jenensis* angewandte Methode. Fadenstücke, deren Längen vorher in einem Tropfen Wasser mit einem Okularmikrometer bestimmt waren, wurden in 1 Tropfen Traubenzuckerlösung verschiedener Konzentration übertragen und ihre Längenänderung gemessen. Selbst in einer 0,015 molaren Glukoselösung ist noch eine minimale Verkürzung

der Fäden zu beobachten. So kontrahierte sich ein 26 Teilstriche langes Fadenfragment auf 25,8 Teilstriche. Demnach müßte der Saugkraftwert zwischen 0,3 und 0,5 Atm. liegen. Dieser Wert stimmt der Größenordnung nach ganz gut mit dem von SCHMID (1923) bei *Oscillatoria Jenensis* gefundenen von 0,65 Atm. im Maximum überein. Diese niedrigen Werte waren zu erwarten, da ja praktisch wassergesättigte Fäden zur Bestimmung benutzt wurden (s. S. 198).

VIII. Der Turgor der toten Blaualgenzelle.

Wie weiter oben mitgeteilt, erlangen auf einem Objektträger völlig eingetrocknete *Oscillatoria*-Fäden nicht nur nach Zugabe von reinem Wasser, sondern auch nach Benetzung mit einer 1 molaren Harnstofflösung augenblicklich wieder ihre volle Turgeszenz. HANSGIRG (1883) erwähnt schon, daß altes Herbarmaterial, das ganz trocken lag, nach Wasserzutritt sofort turgeszent wird. Ebenso erreicht in 96% Alkohol fixiertes Material nach Übertragung in Wasser die volle Turgeszenz der lebenden Fäden, die Endzellen der Trichome beulen sich prall konvex aus. Diese merkwürdige Erscheinung geht noch weiter. Selbst stunden-, ja tagelang mit Eau de Javelle behandelte Fäden, deren Plasma herausgelöst ist, deren Zellen im Mikroskop völlig leer erscheinen, besitzen noch vollkommen gespannte Zellwände, als ob von innen her ein Druck auf sie ausgeübt würde, also ein Turgor bestünde.

Daß tatsächlich auch die nach Eau de Javelle-Einwirkung völlig leer erscheinenden Zellen noch einen Turgor besitzen, konnte ich auf folgende Art beweisen. Saugt man durch ein Präparat mit in Wasser liegenden, vorher mit Eau de Javelle behandelten Fäden 96% Alkohol, so entspannen sich die Zellen sofort, und in dem vorher völlig leer erscheinenden Lumen bildet sich ein eckig kontrahierter Inhaltskörper, der die verkleinerte ursprüngliche Form der Zelle besitzt und allseitig von der entspannten Wand losgelöst ist (Abb. 11). Wird jetzt der Alkohol wieder durch Wasser ersetzt, dehnt sich der Körper plötzlich aus, die Zellen erscheinen völlig leer und erhalten die volle Turgeszenz. Nach erneuter Alkoholzugabe wird der Inhaltskörper wieder sichtbar und die Zellen sind vollständig entspannt. So kann man diesen Vorgang ad infinitum wiederholen.

Nimmt man geringere Alkoholkonzentrationen, so bilden sich nicht die eckigen Inhaltskörper der Abb. 11, sondern mehr oder weniger runde. In 50% Alkohol z. B. tritt häufig eine kugelige Kontraktion auf, so daß das Bild einer idealen Konvexkontraktion entsteht, wie es in Abb. 12 wiedergegeben ist. 35% Alkohol bewirkt nur noch eine schwache Entspannung der Fäden ohne Kontraktion und Ablösung eines Inhaltskörpers.

Bei dieser Erscheinung kann es sich nicht um das Vorhandensein einer erhalten gebliebenen semipermeablen Haut, die mit einer osmotisch wirksamen Lösung gefüllt sein müßte, handeln, da in 2 mol Traubenzucker sich nichts ereignet; auch in konzentriertem Glyzerin

Abb. 11. *Oscillatoria Borneti* nach Eau de Javelle-Behandlung und Zugabe von 96% Alkohol: In den vorher völlig leer erscheinenden Zellen kontrahiert sich ein Inhaltskörper, der allseitig von den entspannten Zellwänden losgelöst ist und ein verkleinertes Abbild der ursprünglichen Zellenform darstellt. Vergr. 1000fach.

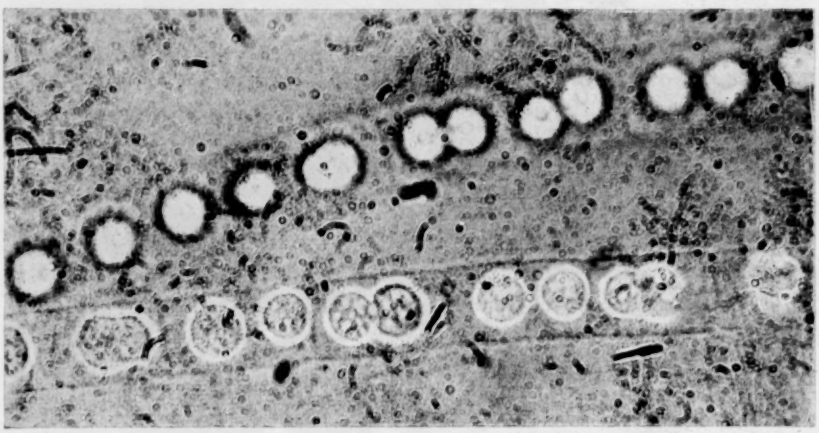


Abb. 12. *Oscillatoria Borneti* nach Eau de Javelle-Behandlung und Zugabe von 50% Alkohol: In den vorher leer erscheinenden Zellen kontrahiert sich ein kugeliger Inhaltskörper, der bei noch nicht vollständig durchgeschnürten Nachbarzellen eine Biskuitform annimmt. Vergr. 1000fach.

schrumpfen die Fäden nur sehr stark, dehnen sich aber in wenigen Minuten wieder aus, werden turgeszent, und die Zellen erscheinen weiterhin völlig leer. Gegen einen osmotischen Vorgang mit sich ablösender semipermeabler Haut spricht auch die Entstehung vieler kleiner Inhaltskörperchen statt eines großen, wenn der Alkohol langsam durch das Präparat gesogen wird. Es muß vielmehr ein großmoleküliger, unbegrenzt quellbarer Stoff vorliegen, für den die unverletzte

Zellwand impermeabel ist und der von Eau de Javelle nicht angegriffen wird. Dieser hypothetische Stoff, der auf Grund seines Quellungsvermögens die Turgeszenz der toten *Oscillatoria*-Zelle bedingt, soll zunächst als „Quellsubstanz" bezeichnet werden.

Bevor wir uns etwas näher mit der Quellsubstanz beschäftigen, will ich noch auf einige andere Inhaltsstoffe, die der Eau de Javelle-Behandlung widerstehen, eingehen.

Werden lebende *Oscillatoria Borneti*-Fäden in Eau de Javelle übertragen, so findet häufig nicht eine scheinbar restlose Herauslösung des Zellinhaltes statt, sondern nach längerer Einwirkung des Reagens entstehen in den zunächst leer erscheinenden Zellen größere oder kleinere, stark lichtbrechende Tropfen. Die kleineren Körperchen zeigen BROWNsche Molekularbewegung. Toluidinblau 1:1000 in destilliertem Wasser färbt außer den Membranen auch diese Tropfen mit violettem Farbton. Säurefuchsin 1:100 in destilliertem Wasser läßt alles farblos. Wird das p_H der Säurefuchsinlösung auf 2,8 erniedrigt, färbt sich das Innere dieser Entmischungstropfen rot, während die Peripherie farblos bleibt. Bei größeren Tropfen kann dieser farblose Mantel auch platzen und dann entweder als farblose Kappe aufsitzen oder als farblose Schollen der Oberfläche des gefärbten Kernes anhaften. Rhodamin B 1:1000 in destilliertem Wasser gelöst wird sehr stark von den Entmischungstropfen gespeichert, ohne eine deutliche Differenzierung in Kern und Mantel aufzuweisen. Der Mantel scheint allerdings manchmal stärker gefärbt zu sein. Zugabe von Toluidinblau zu dem mit Säurefuchsin gefärbten Präparat läßt erkennen, daß das Toluidinblau vorwiegend von der peripheren Schicht aufgenommen wird. Auch Sudan III färbt die Entmischungstropfen, und der Mantel wird homogen rot, während der in seiner Grundsubstanz farblose Kern von einem rotgefärbten Netzwerk durchzogen scheint.

Bringt man in völlig leer erscheinenden Zellen die Quellsubstanz mit 96% Alkohol zur Kontraktion und nach Ersatz des Alkohols durch Wasser wieder zur Expansion, dann bleibt in der Mitte der Zelle ein Restkörper zurück, der sich Farbstoffen gegenüber genau so verhält wie die oben beschriebenen Entmischungstropfen. Die Zweischichtigkeit ist häufig gut zu erkennen, und ebenso wird Sudan III intensiv gespeichert, wie Abb. 13 belegt. In Nachbarzellen mit noch unvollständiger gemeinsamer Scheidewand zeigt auch der Restkörper eine Biskuitform (Abb. 13). Aus den Farbstoffreaktionen geht hervor, daß die Entmischungstropfen nach Eau de Javelle-Behandlung und der Restkörper nach Kontraktion und Expansion der Quellsubstanz in erster Linie aus Lipoiden bestehen müssen. Die Lipoide scheinen vorwiegend in der peripheren Schicht lokalisiert zu sein, während im Kern der Entmischungstropfen — aus der Säurefuchsinfärbung bei

niedrigem p_H zu schließen — noch Eiweißkörper enthalten sein können, die vielleicht durch den Lipoidmantel vor einer Zerstörung durch Eau de Javelle geschützt sind. Für die Lipoidnatur der Entmischungstropfen spricht auch die Tatsache, daß nach mehrmaliger Kontraktion und Expansion der Quellsubstanz mit jedem Alkohol/Wasser-Wechsel der Restkörper immer kleiner wird, also nicht alkoholbeständig ist. Das letztere wird besonders in alkoholfixierten Fäden von *Oscillatoria Borneti* deutlich. Nach längerem Aufenthalt in Alkohol und anschließender Eau de Javelle-Behandlung zeigen die Zellen nie Entmischungstropfen und nach Kontraktion und Expansion der Quellsubstanz keinen Restkörper. Die Zellen erscheinen immer völlig leer. Nur

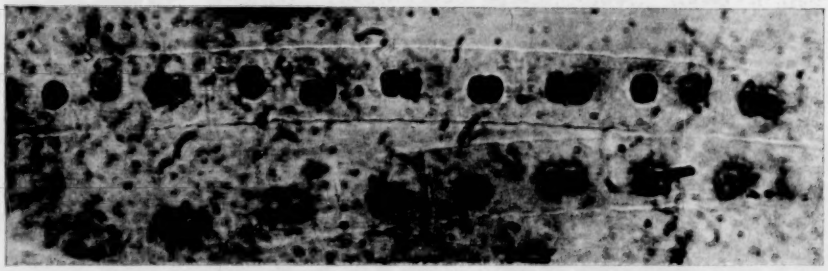


Abb. 13. *Oscillatoria Borneii* nach Eau de Javelle-Behandlung und Kontraktion der Quellsubstanz durch 96 % Alkohol sowie wieder Expansion nach Wasserzugabe: In den Zellen bleiben lipoide Restkörper zurück. Sudan III-Färbung. Aufnahme mit Grünfilter. Vergr. 1000fach.

auf Grund eines schwachen Unterschiedes in der Lichtbrechung gegenüber dem Außenmedium oder turgorlosen Zellen kann man vermuten, daß sie noch irgendeinen Inhalt führen.

Es erhebt sich nun die Frage nach der stofflichen Natur der Quellsubstanz. Da der Turgor auch nach Eau de Javelle-Behandlung erhalten bleibt, kann es sich nicht um einen Eiweißkörper handeln. Wahrscheinlich liegt ein Kohlenhydrat vor. Mit Chlorzinkjod ergeben die mit Eau de Javelle behandelten Fäden eine homogene, intensive Braunfärbung. Dieselbe mahagonibraune Färbung erhält man mit Jod-Jodkalium. Da nach Erwärmung die Braunfärbung verschwindet und nach dem Erkalten wieder in Erscheinung tritt, liegt aller Wahrscheinlichkeit nach Glykogen vor. Wie aus Abb. 14 zu ersehen, geben nur die turgeszenten Zellen die Glykogenreaktion, während die turgorlosen im Knick des Fadens und am Ende des einen Schenkels vollständig farblos sind und in der Abbildung nur die entspannten, ungefärbten Zellwände schwach erkennen lassen. Wird in den mit Jod braun gefärbten Fäden mit 96% Alkohol die Quellsubstanz zur Kontraktion gebracht, so kann man einwandfrei sehen, daß nur diese Glykogenreaktion aufweist. Die Membranen und der Raum zwischen

kontrahierter Quellsubstanz und Zellwand bleiben vollständig farblos. Unter der Alkoholeinwirkung wird allerdings auch das Jod aus der Quellsubstanz rasch ausgewaschen.

Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure zu den mit Jod braun gefärbten Trichomen bewirkt eine sofortige Entfärbung, und in den Zellen bilden sich lauter kleine, blauviolett gefärbte Stäbchen und Rhomben, die lebhafte BROWNsche Molekularbewegung ausführen. An manchen Zellen scheinen die violett gefärbten Körperchen auch

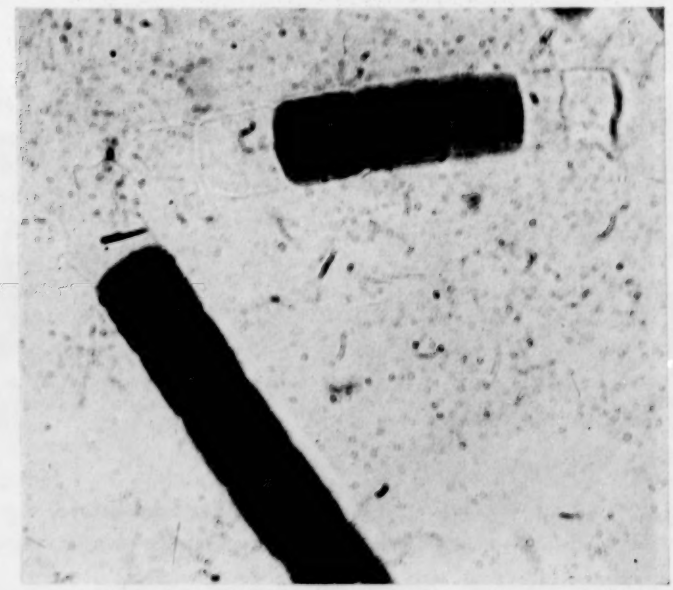


Abb. 14. *Oscillatoria Borneti*. Nach Eau de Javelle-Behandlung zeigen die turgeszenten Zellen mit Jod-Jodkalium Glykogenreaktion (homogene, mahagonibraune Färbung), während die turgorlosen Zellen im Knick des Fadens sowie am Ende des kürzeren Schenkels völlig farblos sind und nur ganz zart die ungefärbten Zellwände erkennen lassen. Vergr. 1000fach.

außen an den Wänden zu kleben. Einige Fäden führen nur wenige gefärbte Stäbchen, andere sind so vollgestopft damit, daß sie bei schwächerer Vergrößerung schwarz erscheinen. Auch größere blauviolette Aggregate entstehen. Es handelt sich hierbei aber um keine Reaktion der Quellsubstanz, sondern wahrscheinlich um die Ausfällung metallischen Jods durch die H_2SO_4. Im Modellversuch kann man nämlich dieselben Bildungen erhalten, wenn man einen Tropfen Jod-Jodkaliumlösung und einen Tropfen konzentrierter H_2SO_4 zusammenfließen läßt; die Jodlösung muß nur konzentriert genug sein.

In diesem Zusammenhang ist es vielleicht von Interesse, darauf hinzuweisen, daß KOHL (1903) nach längerer Chlorzinkjodeinwirkung in seinen Zentralkörnern (Metachromatinkörperchen) zum Teil blau-

schwarze, unregelmäßig geformte, mitunter traubig erscheinende Gebilde erhielt. KOHL schloß daraus, daß die Zentralkörner außer Volutin noch eine andere Substanz enthalten müßten. Die Blaufärbung blieb aus, wenn die Chlorzinkjodlösung zu wenig Jod enthielt. MEYER (1904) konnte bei einer Nachprüfung die Befunde KOHLS nicht bestätigen. Nach den von mir erhaltenen Ergebnissen ist es sehr naheliegend, anzunehmen, daß KOHL auch Ausfällungen metallischen Jods vorgelegen haben.

Falls die Quellsubstanz nur aus Glykogen besteht, dürften glykogenfreie Zellen nach Eau de Javelle-Behandlung keinen Turgor mehr besitzen. Da nach HEGLER (1901) und KOHL (1903) in Dunkelkulturen kein Glykogen mehr nachzuweisen sein soll, versuchte ich auch bei *Oscillatoria Borneti* durch Verdunkelung den Glykogengehalt herabzusetzen. Leider zeigten die Fäden nach 5tägiger Verdunkelung schon Degenerationserscheinungen, und nach Eau de Javelle-Behandlung machten die Zellen nicht mehr den turgeszenten Eindruck wie Kontrollen aus Lichtkulturen. Jod-Jodkalium bedingte nur noch eine Gelbfärbung, und Alkoholzusatz führte zu keiner Kontraktion einer Quellsubstanz mehr. Damit ist allerdings noch nicht entschieden, ob die Quellsubstanz tatsächlich aus Glykogen besteht oder ob Glykogen nur ein Begleitstoff ist. Da die Fäden durch die Verdunkelung stark gelitten hatten, können die Zellwände auch für die Quellsubstanz permeabel geworden sein und dadurch eine Herabsetzung des Turgors verursacht haben. *Oscillatoria sancta*, die Verdunkelung bedeutend besser verträgt als *Oscillatoria Borneti*, ergab nach 3 Wochen Dunkelkultur bei 20° C noch sehr gute Glykogenreaktion, und nach Alkoholzusatz zu den mit Eau de Javelle behandelten Fäden wurde die Quellsubstanz durch Kontraktion sichtbar.

Weitere Untersuchungen müssen ergeben, wieweit die Quellsubstanz mit Glykogen identisch ist.

IX. Besprechung der Ergebnisse.

In zellmorphologischer wie in zellphysiologischer Hinsicht läßt sich die Cyanophyceenzelle nach den erhaltenen Ergebnissen wohl kaum mit der Organisation der Zelle einer höheren Pflanze vergleichen. Aus diesem Grunde müssen auch alle bisherigen Bemühungen, in der Blaualgenzelle die charakteristischen Elemente der typischen Pflanzenzelle wie Kern, Plastiden und Zellsaftvakuolen zu finden, als gescheitert angesehen werden. Ebenso abwegig kann es sein, den Turgormechanismus der Cyanophyceen auf ein der normalen Zelle entsprechendes osmotisches System zurückführen zu wollen.

Auf Grund der zitierten Literatur und der an *Oscillatoria Borneti* gemachten Beobachtungen möchte ich folgendes *mögliche* Bild der

Cyanophyceenzelle entwerfen, das zunächst als Arbeitsgrundlage für die weiteren, sich auf möglichst viele Arten erstreckenden Untersuchungen dienen soll und das hoffentlich bald durch ein besseres, den wirklichen Verhältnissen näherkommendes ersetzt werden kann.

Das ganze Zellinnere ist von einer plasmatischen Grundsubstanz ausgefüllt, die die Farbstoffe enthält, ob in diffuser Verteilung oder in Granaform, muß noch offengelassen werden. Es wäre durchaus denkbar, daß die lipophilen Farbstoffe wie Chlorophyll und Carotinoide in Grana lokalisiert sind, während die hydrophilen Phycocyan und Phycoerythrin das Plasma diffus durchtränken. Eine Trennung in gefärbtes Chromatoplasma und farbloses Zentroplasma ist nicht durchführbar, da die gesamte plasmatische Grundsubstanz gefärbt ist. Dabei soll aber durchaus die Möglichkeit offengelassen werden, daß die Färbungsintensität nach der Peripherie zunimmt.

Ein morphologisch differenzierter Kern ist nicht vorhanden, sondern nur ein positive FEULGENsche Nuklealreaktion zeigender Chromidialapparat, der in Granula- oder Netzform meist in der Mitte der Zelle in der plasmatischen Grundsubstanz eingebettet liegt. Er übernimmt die Funktion des Ruhekerns der höheren Pflanzenzelle, d. h. er steuert das Zellgeschehen. Bei der Zellteilung wird der Chromidialapparat passiv von der sich zentripetal bildenden Zellwand durchschnitten.

Nach außen bzw. zu den Nachbarzellen ist die plasmatische Grundsubstanz durch eine pelliculaartige Membran, mit der sie verwachsen ist, abgegrenzt. Eine besondere semipermeable äußere Plasmahaut, ein Plasmalemma, besitzt der Cyanophyceenprotoplast nicht. Die pelliculaartige Membran zeichnet sich durch eine hohe elastische Dehnbarkeit und durch eine auf ihrer Porenweite beruhende Semipermeabilität aus. Sie ist durch Einlagerung anderer Stoffe — wahrscheinlich Pektin und Hemizellulosen — verstärkt. Zellulose kommt nur in besonderen Fällen wie bei Heterozysten vor.

Mit Zellsaft gefüllte Vakuolen besitzt die Cyanophyceenzelle in ihrer normalen Ausbildung nicht. In gewisser Beziehung kann man höchstens die Zentralsubstanz (= Endoplasten) als ein System von Vakuolen betrachten, die aber nicht mit flüssigem Zellsaft, sondern mit einem Gel — wahrscheinlich vorwiegend Glykogen — gefüllt sind. Diese meist in der Zellmitte liegende farblose Zentralsubstanz bedingt die schwächere Pigmentierung des zentralen Zellteils und verführte so zur Unterscheidung zwischen Chromatoplasma und farblosem Zentroplasma. Bei *Oscillatoria Borneti* füllt die Zentralsubstanz vorwiegend die ganze Zelle aus und bedingt so die Keritomie.

Außer der Zentralsubstanz, auf deren mögliche Beteiligung beim Turgor der Cyanophyceen weiter unten hingewiesen werden soll,

finden wir als Plasmaeinschlüsse noch Cyanophycinkörner, die wohl Reservestoffe darstellen und wahrscheinlich aus Glykoproteiden bestehen. Offengelassen werden muß noch die Entscheidung, ob die Metachromatinkörperchen wirklich präformierte Plasmaeinschlüsse oder nur durch Vitalfarbstoffe und andere Reagentien hervorgerufene Entmischungstropfen sind. Ein Hauptargument für ihre Präexistenz, ihre Zweischichtigkeit (S. 178) ist durch den Nachweis der Zweischichtigkeit einwandfreier Entmischungstropfen (S. 192) entkräftet worden. Am ehesten wird hier mit dem Phasenkontrastverfahren in Verbindung mit Färbungen eine endgültige Entscheidung möglich sein.

Die Verwachsung von Plasma und Zellwand, sowie die semipermeablen Eigenschaften der letzteren sind der Grund dafür, daß die Blaualgenzelle keine echte Plasmolyse zeigt. Alle bisher als Plasmolyse bezeichneten Loslösungen des Protoplasten von der Membran sind wohl letale Erscheinungen. Nach Übertragung der Cyanophyceenzelle in ein hypertonisches Medium wird dem Protoplasten Wasser entzogen, was bei den fädigen Formen zu einer Verkürzung und bei hohem osmotischem Wert der Außenlösung und schlechter Permeabilität der Membran für die gelösten Teilchen zu einer Schrumpfung und Zerknitterung, zu einer „Cytorrhyse" führt. Können die gelösten Teilchen die Membran passieren, versuchen die „negativ" gespannten Zellwände sich wieder zu entspannen; durch ihre Verwachsung mit dem Protoplasten werden sie aber zunächst daran gehindert, und es kommt zu Zerreißungen in der Übergangszone Membran/Plasma, was zu einer Wiederausdehnung der Zellwand, aber auch zum Absterben des Protoplasten führt, falls er nicht schon vorher durch die starke Kontraktion letal geschädigt worden ist. In diesem Zustand machen die Zellen durchaus den Eindruck einer normalen Krampfplasmolyse. Trotzdem würde ich den Begriff Plasmolyse vermeiden, da es sich nicht mehr um einen vitalen Vorgang handelt. Die Cytorrhyse geht um so schneller in den Zustand der „Scheinplasmolyse" über, je durchlässiger die Membran für die gelösten Teilchen ist, und bleibt bei vollkommener Impermeabilität der Zellwände wie im Falle des $Al(NO_3)_3$ (S. 186) lange Zeit erhalten.

Von dieser Vorstellung aus muß es fraglich erscheinen, ob wir mit Hilfe der „Grenzplasmolyse" bei den Blaualgen eine Bestimmung des osmotischen Wertes des Zellinhaltes durchführen können. Die Grenzplasmolyse braucht hier nicht den osmotischen Gleichgewichtszustand zwischen Zellinhalt und Außenmedium darzustellen; sie entspricht vielmehr dem Wert, bei dem die Elastizitätskraft der Membran die Adhäsion zwischen Plasma und Zellwand bzw. die Kohäsion der Plasmateilchen gerade überwindet. Die osmotische Grenzkonzentration

dürfte bei niedrigeren Werten als den so gefundenen (im Durchschnitt 7—10 Atm.) liegen.

Auffallend niedrige Werte (mindestens 0,65 Atm.) hat SCHMID (1923) mit der Verkürzungsmethode ermittelt. Dabei ist aber zu prüfen, ob SCHMID wirklich den osmotischen Wert der *Oscillatoria*-Zelle mit seiner Methode erfaßt hat. Daß SCHMID tatsächlich den osmotischen Wert des Zellinhaltes meint, geht aus der von ihm gebrauchten Terminologie und der Parallelsetzung seines beobachteten Wertes mit den von anderen Autoren an anderen Pflanzen grenzplasmolytisch erhaltenen Zahlen hervor.

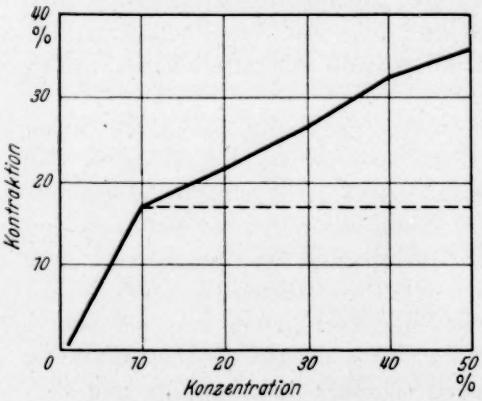


Abb. 15. Kontraktion von *Oscillatoria Jenensis* in verschieden konzentrierten Rohrzuckerlösungen (ausgezogene Kurve), und theoretisch zu erwartendes Verhalten einer zu normaler Plasmolyse befähigten Alge (gestrichelte Kurve). Nach SCHMID 1923, geändert.

Vor der Längenmessung der Fäden ließ SCHMID seine *Oscillatoria Jenensis* mindestens eine Stunde in destilliertem Wasser verweilen. Bei der äußerst raschen Wasseraufnahme der Blaualgen ist anzunehmen, daß die Zellen wassergesättigt waren und ihre maximale Länge erreicht hatten. Zu diesen voll turgeszenten Fäden tropfte SCHMID verschieden konzentrierte Rohrzuckerlösungen und bestimmte die Konzentration, bei der gerade eine Verkürzung wahrnehmbar war. Bei dem erhaltenen Wert von 0,029 mol Rohrzucker = 0,65 Atm. handelt es sich sogar um eine Maximalgröße, wie Verfasser selbst betont, da bei der benutzten Versuchsanordnung nur die Anwendung schwacher Vergrößerungen möglich war. Aus der kurzen Schilderung des Versuchsablaufes geht wohl deutlich hervor, daß SCHMID mit seiner Methode nicht den osmotischen Wert des Zellinhaltes, sondern die Differenz zwischen osmotischem Druck und Turgordruck bestimmt hat, d. h. die Saugkraft der Zelle. S_z muß in diesem Fall natürlich, wie auch in den von mir mit *Oscillatoria Borneti* durchgeführten Beobachtungen (S. 189), äußerst gering sein, da ja das Ausgangsmaterial praktisch wassergesättigt war. Die von SCHMID gezogenen Schlußfolgerungen auf den osmotischen Wert der *Oscillatoria*-Zelle sind demnach hinfällig.

Daß trotz der oben angeführten Bedenken im Zustand der „Grenzplasmolyse" der osmotische Druck des Außenmediums wenigstens einen Näherungswert für die Saugkraft des Zellinhaltes — gleich

welcher Ursache dieser ist — gibt, will ich an Hand einiger Kurven von SCHMID (1923) belegen.

In Abb. 15 ist die Kontraktion von *Oscillatoria Jenensis* in verschieden konzentrierten Rohrzuckerlösungen in der ersten Minute wiedergegeben. An der Kurve fällt auf, daß sie bis zu 10% Saccharose steil ansteigt, dann aber einen Knick macht und flacher weiter verläuft. Das Zustandekommen dieser Gestalt möchte ich folgendermaßen erklären: Im Ausgangspunkt *0* haben wir voll turgeszente Algen mit maximal gespannten Membranen. Mit steigender Zuckerkonzentration wird den Zellen Wasser entzogen, die Membranen entspannen sich, die Länge der Fäden nimmt ab. Diese Kontraktion erfolgt kontinuierlich mit zunehmender Konzentration, bis der Zustand der Grenzplasmolyse erreicht ist, d. h. bis die Zellwände völlig entspannt sind. Dies ist der Fall bei 10% Saccharose. Bei einer normal plasmolysierbaren Alge — etwa *Spirogyra* — würde bei den höheren Konzentrationen des Außenmediums die Kurve parallel zur Abszisse (gestrichelte Linie in Abb. 15) weiter verlaufen, da keine Längenänderung mehr erfolgt; der sich weiter kontrahierende Protoplast löst sich ja von der vollständig entspannten Zellwand. Dies ist aber nicht bei den Cyanophyceen der Fall, da hier eine Verwachsung zwischen Membran und Protoplasma besteht. Bei 10% Rohrzucker ist zwar die Zellwand völlig entspannt, aber in den höheren Konzentrationen reißt der sich stärker kontrahierende Protoplast die Membran mit und bedingt so eine weitere Verkürzung des Fadens. Die Kurve verläuft jetzt aber flacher, da der Protoplastenverkleinerung die „negative" Membranspannung entgegenwirkt. Auf Grund dieser negativen Wandspannung kommt es, wie oben ausgeführt, zu Zerreißungen des Plasmas an der Grenzfläche Membran/Plasma, das müßte aber eine Wiederausdehnung der Membran und damit eine Längenzunahme der Fäden zur Folge haben. Die in Abb. 16 wiedergegebenen Kurven nach SCHMID zeigen, daß das tatsächlich zutrifft. SCHMID erklärt zwar diese Erscheinung mit der Unvollkommenheit seiner Methode. Er tropft zu den in Wasser liegenden Algen die Zuckerlösung zu; durch die allmähliche Vermischung von Wasser und Lösung wird letztere verdünnt und bedingt so wieder eine Ausdehnung der Fäden. Dieser Versuchsfehler ist unbedingt zu berücksichtigen und ist wohl für den Verlauf der 5%-Kurve in Abb. 16 verantwortlich, reicht aber meiner Meinung nach nicht aus, auch die 20%-Kurve zu erklären. Zwischen diesen beiden Kurven liegt der kritische Bereich um 10% (s. Abb. 15). Bei 5% kommt es zu keiner Zerreißung, da die Membran noch nicht völlig entspannt ist. In 20% Rohrzucker liegt aber eine negative Wandspannung vor, die zu einer Zerreißung und damit zu einer sekundären Expansion der Fäden führt.

An sich wäre zu erwarten, daß in allen Konzentrationen über 10% bei der auf Zerreißungen in der Zelle beruhenden Ausdehnung der gleiche Endwert erreicht wird. Dies ist aber nach den Kurven in Abb. 16 nicht der Fall. Das hängt wohl mit der nicht vollständigen Loslösung des Plasmas von den Zellwänden zusammen. Wie aus den Abb. 6—8 und 10 hervorgeht, löst sich der Protoplast vorwiegend von den Längswänden, während er an den Querwänden bedeutend fester haftet. Der in der höheren Konzentration stärker kontrahierte Protoplast bedingt so durch den auf die Querwände ausgeübten Zug eine länger andauernde Verkürzung der Fäden.

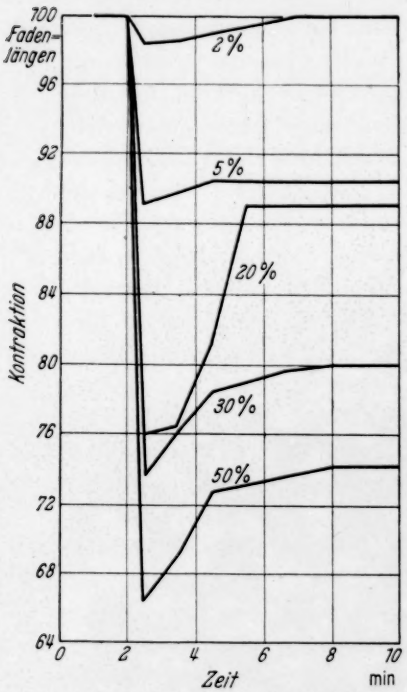


Abb. 16. Kontraktion mit folgender Expansion von *Oscillatoria Jenensis* in verschieden konzentrierten Rohrzuckerlösungen. Nach SCHMID 1923.

Bemerkenswert ist die Übereinstimmung des kritischen Kontraktionsbereiches um 10% Rohrzucker mit den Grenzwerten für die Plasmazerreißung („Grenzplasmolyse"), die Bewegungsfähigkeit und die Entwicklungsmöglichkeit der Algen, so daß dieser Wert uns wohl doch eine annähernde Vorstellung von der Größenordnung der Saugkraft des Zellinnern vermittelt.

Es erhebt sich nun aber die Frage, ob diese Saugkraft und damit auch der Turgor der Cyanophyceenzelle auf ein der höheren Pflanzenzelle entsprechendes osmotisches System oder auf einen Quellungsmechanismus zurückzuführen ist. Bei Besprechung des Turgors der toten Blaualgenzelle hatten wir schon ein Quellungssystem kennen gelernt, das darauf beruht, daß ein unbegrenzt quellbarer Stoff von einer für diese Quellsubstanz impermeablen Membran umschlossen wird. Einige Anzeichen sprechen dafür, daß diese Quellsubstanz vorwiegend aus Glykogen besteht. Ähnlich können die Verhältnisse in der lebenden Blaualgenzelle sein; nur daß hier wahrscheinlich das Glykogen bzw. eine andere Quellsubstanz nicht in freier Form vorliegt, sondern an Eiweiß gebunden sein dürfte. Diese für den Turgor in erster Linie verantwortliche Quellsubstanz kann nun vorwiegend die Zentralsubstanz (= Endoplasten) aufbauen.

In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß nicht nur nach Eau de Javelle-Behandlung durch Kontraktion mit Alkohol der Beweis für das Vorhandensein einer Quellsubstanz erbracht werden konnte, sondern daß sie auch nach $CaCl_2$-Einwirkung unter Umständen sichtbar wird. So zeigten nach Übertragung von *Oscillatoria Borneti*-Fäden in 1 mol $CaCl_2$ die Zellen stark kontrahierte Protoplasten, die auch nach Zugabe von Wasser die Kontraktion beibehielten, also irreversibel geschädigt waren; trotzdem wiesen aber die Fäden im Wasser normale Turgeszenz auf. Zuführung von 96% Alkohol bedingte ein Schrumpfen und Zerknittern der Fäden. Langsam dehnten sich die Membranen wieder aus. Wurde der Alkohol durch Wasser ersetzt, dann erhielten die Zellen sofort wieder den vollen Turgeszenzgrad, obgleich der Raum zwischen kontrahierten Protoplasten und Zellwand völlig leer erschien. Ließ man jetzt aber das Wasser langsam verdunsten, verkürzten sich die Fäden, und allmählich löste sich in dem scheinbar leeren Raum die Quellsubstanz zunächst konkav an einigen Stellen von der Membran ab und war jetzt deutlich an der etwas stärkeren Lichtbrechung zu erkennen. Nach erneuter Wasserzugabe füllte die Quellsubstanz sofort wieder den Raum zwischen kontrahierten Protoplasten und Membran aus und war nicht mehr sichtbar. Die Fäden hatten wieder ihre ursprüngliche Länge erreicht. Hier muß also ohne Lösung des Zellinhaltes eine Trennung zwischen Quellsubstanz und Plasma erfolgt sein.

Daß der Zentralsubstanz für den Turgor eine gewisse Bedeutung zukommen muß, geht aus folgenden Beobachtungen CHADEFAUDS (1937) hervor. Mit Neutralrot oder Kresylblau färben sich in der äußersten Plasmaschicht kolloidale, beinahe solide Elemente metachromatisch, die durch Wasseraufnahme nach der Farbstoffbehandlung zu großen Vakuolen auf Kosten des „Zentralkörpers" anschwellen. Der zentrale Teil der Zelle nimmt in dem Maße, wie die Vakuolen größer werden, an Volumen ab. In mäßig hypertonischer Zuckerlösung kann man dasselbe beobachten, so daß man das paradoxe Ergebnis erhält, daß eine „Plasmolyse" begleitet wird von einem Größerwerden des Vakuoms auf Kosten des zentralen Zellteiles. Erst in stark hypertonischen Medien unterbleibt das Anschwellen der vital gefärbten Elemente in der peripheren Plasmaschicht, die Verfasser für das Vakuom der Zelle hält. Zwischen dem zentralen Teil der Zelle und dem Vakuom soll ein osmotisches Gleichgewicht bestehen, das die Wasserverteilung zwischen beiden Elementen regelt. Normalerweise besitzt nach der Annahme CHADEFAUDS der „Zentralkörper" einen höheren osmotischen Druck als das Vakuom, so daß er das ganze Wasser ansaugt und das Vakuom dehydratisiert bleibt. Demnach regelt der zentrale Teil die Turgeszenz der Zelle.

Diesem letzten Satz möchte ich zustimmen, nur mit der Einschränkung, daß es sich weniger um ein osmotisches als um ein Quellungssystem handelt. Vorwiegend der zentrale Teil enthält die Quellsubstanz. Im Endeffekt, d. h. in bezug auf den Turgor kommen natürlich beide Ansichten auf das gleiche hinaus.

Wie schon gesagt, kann unter Umständen dem Glykogen außer als Reservestoff auch als Bestandteil der Quellsubstanz zur Aufrechterhaltung des Turgors eine Bedeutung zukommen. Nachdem ERRÉRA (1882) als erster Glykogen bei den Cyanophyceen festgestellt hatte, ist es immer wieder beobachtet worden (ZACHARIAS 1900, HEGLER 1901, MASSART 1901, KOHL 1903, FISCHER 1905, DELAPORTE 1940a). Nur OLIVE (1905) und GARDNER (1906) geben einen negativen Ausfall der Glykogenreaktion an, und ZACHARIAS (1904) konnte in einem Ausnahmefall kein Glykogen nachweisen. Über die Lokalisation des Glykogens in der Zelle weichen die Angaben voneinander ab. Nach HEGLER (1901) und KOHL (1903) soll nur die Rindenschicht, nach ZACHARIAS (1900), MASSART (1901), FISCHER (1905) dagegen vorwiegend der zentrale Zellteil positive Glykogenreaktion ergeben. FISCHER beobachtete bei *Oscillatoria*-Arten eine Beziehung zwischen Glykogenlokalisation und Fadendicke. Bei dünnfädigen Arten findet er das Glykogen im peripheren, bei dickfädigen im zentralen Plasma.

Daß Glykogen nicht nur als Reservestoff von Bedeutung ist, geht aus meinen Beobachtungen an Dunkelkulturen hervor. Solange die Zellen noch vital und voll turgeszent sind, ergeben sie im Gegensatz zu den Angaben von HEGLER (1901) und KOHL (1903) selbst nach wochenlanger Verdunkelung noch eine Glykogenreaktion, die in keiner Weise der Reaktion der Kontrollkulturen im Licht an Intensität nachsteht.

Es soll noch kurz auf die interessante Erscheinung der Membranauflösung nach Harnstoff- bzw. Traubenzuckerbehandlung hingewiesen werden. Hier liegt wohl eine Autolyse vor. Der absterbende Protoplast sondert ein Enzym ab, das diesen Zerfall der Fäden bewirkt. Als erste wird wohl die innerste Membranschicht zerstört, so daß eine vollständige Trennung von Membran und Plasma eintritt. Erfolgt diese Trennung kurz nach dem Absterben, solange das Plasma noch nicht völlig erstarrt ist, so kann sich der befreite Protoplast vollständig abrunden. Darauf ist wohl die Tatsache zurückzuführen, daß zunächst nur die Membranen der konvex kontrahierten Protoplasten zerstört werden (s. S. 188, Abb. 8). Dafür, daß hier ein enzymatischer Vorgang und nicht eine direkte Harnstoff- bzw. Glukosewirkung vorliegt, spricht die Tatsache, daß alkoholfixiertes Material diese Erscheinung nicht zeigt. Andererseits müssen diese beiden Anelektrolyte aber den Vorgang begünstigen, da er in den hypertonischen Salzlösungen nicht zu beobachten ist.

Einen ähnlichen Zerfall der Fäden haben PALLA (1893) und FRITSCH (1905) nach Methylenblaufärbung beobachtet, was ich bestätigen kann. Hier wird auch wahrscheinlich durch die Methylenblauvergiftung das zellwandauflösende Enzym frei. STROH (1938) erreichte einen Zerfall

bei Kultur von *Oscillatoria proboscidea* auf Agarnährboden, vor allem bei Verdunkelung, und durch „Plasmolyse" mit Glycerin, 20—40% Alkohol, 50% Harnstoff u. a. und nachträgliche Überführung in hypotonisches Leitungswasser. Auf diesen Zerfall ist wohl die bei älteren Autoren öfters zu findende Annahme zurückzuführen, daß die fädigen Cyanophyceen befähigt wären, ein chroococcaceenartiges Entwicklungsstadium durchzumachen (unter anderen Zopf 1882, 1883, Tangl 1883, Hansgirg 1883, Zukal 1889, Sauvageau 1892). Vor allem, wenn der Protoplast sich konvex abrundet, wie in meinen Harnstoff- und Glukoseversuchen, und die Membran vor ihrer endgültigen Auflösung verquillt, ist bei flüchtiger Beobachtung ohne weiteres ein Anklang an Chroococcaceen vorhanden. Schon Palla (1893) weist im Anschluß an die Beobachtungen von Tangl (1883) darauf hin, daß dieser chroococcaceenartige Zerfall und die Bildung von „Zoogloen" eine letale Erscheinung seien.

Eine allen Beobachtern immer wieder auffallende Besonderheit der fädigen Cyanophyceen ist das stark abweichende Verhalten der einzelnen Zellen ein und desselben Fadens, sei es nun in bezug auf die Vitalfärbung, die Permeabilität oder andere Reaktionen. In meinen Versuchen mit *Oscillatoria Borneti* war bemerkenswert, daß zwei benachbarte Zellen sich sehr häufig gleichsinnig verhielten. Diese unterschiedliche Reaktionsweise der einzelnen Zellen ist wohl durch das verschiedene Alter und damit durch den verschiedenen Stoffwechsel bedingt. In einer Keimwurzel verhalten sich die Zellen der embryonalen, der Streckungs- und der Dauerzone ja auch ganz verschieden, und dasselbe ist in einem Cyanophyceenfaden der Fall, nur daß wir hier keine Zonentrennung haben, sondern alle Entwicklungszustände durcheinander im Faden vorfinden.

Zum Schluß soll noch darauf hingewiesen werden, daß wir bei Permeabilitätsbestimmungen an Blaualgen nicht mit den bisher üblichen Methoden vorgehen können, falls der Turgor auf einem Quellungsmechanismus und nicht auf einem osmotischen System beruht; ganz abgesehen davon, daß wir auch bei den höheren Pflanzen mit diesen Methoden wohl kaum die Permeabilitätseigenschaften der Plasmagrenzflächen fassen können (Drawert 1948a, b). Bei einem Quellungssystem müssen wir weitgehend die lyotropen Eigenschaften der Ionen berücksichtigen, die bei ihrem Einfluß auf die Quellung etwa bei Anwendung der Knickungsmethode nach Ruhland und Hoffmann (1925) auf *Oscillatoria* (Elo 1937) in bezug auf die Permeabilität falsche Bilder liefern können. Weitere Untersuchungen müssen hier zur Klärung des Turgormechanismus und damit des ganzen zellphysiologischen Fragenkomplexes der Cyanophyceen einsetzen.

Zusammenfassung.

Zellphysiologische Untersuchungen an der keritomisch veränderten *Oscillatoria Borneti* zeigten unter anderem folgende Ergebnisse:

1. Die Vitalfarbstoffe Neutralrot, Methylen- und Toluidinblau werden von den Zellen in den „Vakuolen" gespeichert. Farbstoffaufnahme und -verteilung sind weitgehend unabhängig von der Azidität der Farbstofflösungen.

2. Mit Toluidin- oder Methylenblau + H_2SO_4 färben sich Metachromatinkörperchen, die im Vergleich mit anderen Cyanophyceen nur in geringer Anzahl vorkommen. Ob es sich hierbei um präformierte Gebilde oder um durch den Farbstoff bedingte Entmischungstropfen handelt, kann noch nicht entschieden werden.

3. Im Fluoreszenzmikroskop zeigen alle Plasmastränge einer Zelle Chlorophyllfluoreszenz, so daß es nicht möglich ist, zwischen einem Chromatoplasma und einem farblosen Zentroplasma zu unterscheiden.

4. Während bei anderen geprüften Cyanophyceen mit FEULGENS Nuklealreaktion ein netzförmiger Chromidialapparat sichtbar wird, färben sich bei *Oscillatoria Borneti*, und dies auch nicht immer, nur kleine im Plasma verstreute Körnchen, die bei entsprechender Plasmakonfiguration zu kleineren Haufen zusammentreten können.

5. Die Längs- und vor allem die Querwände sind optisch anisotrop.

6. Hypertonische Elektrolytlösungen bewirken eine Verkürzung der Fäden und eine vorübergehende Zerknitterung der Membranen; die Zerknitterung gleicht sich bei den ein- und zweiwertigen Kationen wieder sehr schnell aus, während sie bei $Al(NO_3)_3$, für das die Zellwand impermeabel ist, erhalten bleibt. Bei der Wiederausdehnung der mit dem Plasma verwachsenen Zellwand kommt es an einzelnen Stellen zu einer Zerreißung in der Grenzschicht Membran/Plasma, da der Protoplast zunächst kontrahiert bleibt, so daß ein Teil der Zellen ein konkav- oder krampfplasmolyseartiges Bild zeigt. Es handelt sich aber um einen letalen Vorgang.

7. In hypertonischen Harnstofflösungen ist außer einer Verkürzung der Fäden zunächst keine Formveränderung des Protoplasten zu bemerken. Aufhebung der Keritomie und Verfärbung des Protoplasten deuten aber auf ein sehr rasches Absterben hin. Allmählich tritt eine konvexe Abhebung von der Membran auf, so daß man den Eindruck einer Konvexplasmolyse erhält. Es folgt eine sehr schnelle, wahrscheinlich autolytische Auflösung der Zellwand. Dieselben Erscheinungen können auch in hypertonischen Glukoselösungen beobachtet werden, nur daß hier wie in den Elektrolytlösungen anfängliche Zerknitterung der Membran und scheinbare Krampfplasmolyse vorausgehen.

8. Ebenso wie alkoholfixierte sind auch mit Eau de Javelle behandelte Fäden, deren Zellen völlig leer erscheinen, noch turgeszent. Durch Entquellung mit 96% Alkohol konnte aber in den homogen leer erscheinenden Fäden eine „Quellsubstanz" sichtbar gemacht werden, die den hohen Turgor der toten Zellen bedingt. Bei der Quellsubstanz muß es sich um einen unbegrenzt quellbaren Stoff handeln, für den die Zellwand impermeabel ist. Mit Jod-Jodkalium gibt diese Substanz Glykogenreaktion.

9. Auf Grund der zitierten Literatur und der erhaltenen Versuchsergebnisse wird von der Cyanophyceenzelle folgendes Bild als Arbeitsgrundlage entworfen: Die Zellwand ist mit dem Plasma fest verwachsen und stellt ein durch Pektin und Hemizellulosen verstärktes pelliculaartiges, semipermeables Gebilde dar. Das Zellinnere ist von einem die Farbstoffe tragenden Cytoplasma ausgefüllt. Eine Trennung in ein Chromatoplasma und ein farbloses Zentroplasma ist nicht möglich. Der zentrale Teil erscheint dadurch farblos, daß in dem gefärbten Zytoplasma in Vakuolen bzw. als Granula eine farblose Zentralsubstanz (= Endoplasten) eingelagert ist. Die Zentralsubstanz ist wahrscheinlich mit der den Turgor der Zelle verursachenden Quellsubstanz identisch. Echte, mit Zellsaft gefüllte Vakuolen sind im Normalfall ebensowenig vorhanden wie ein echter Zellkern. Die Funktion des Ruhekerns der höheren Pflanzenzelle übernimmt ein Chromidialapparat, der Feulgens Nuklealreaktion zeigt. Bei der Zellteilung wird dieser Chromidialapparat von der zentripetal sich bildenden neuen Querwand passiv durchschnitten. Als weitere Einschlüsse führt das Zytoplasma Cyanophycinkörnchen (= Ektoplasten), die einen Reservestoff darstellen. Die Präexistenz der Metachromatinkörperchen (= Epiplasten) kann nicht sichergestellt werden.

10. Auf Grund der besonderen morphologischen Struktur der Cyanophyceenzelle ist diese nicht zu einer echten Plasmolyse befähigt. Der Turgor wird nicht durch ein der höheren Pflanzenzelle entsprechendes osmotisches System, sondern durch einen Quellungsmechanismus bedingt.

Literatur.

Acton, E.: Observations on the cytology of *Chroococcaceae*. Ann. Bot. **28**, 433 (1914). — Alexeieff, A.: Sur la question du noyau chez les Bactéries. Arch. Protistenk. **49**, 396 (1924). — Andrews, F. M.: Die Wirkung der Zentrifugalkraft auf Pflanzen. Jb. Bot. **56**, 221 (1915). — Baumgärtel, O.: Das Problem der Cyanophyceenzelle. Arch. Protistenk. **41**, 50 (1920). — Becker, W. A.: Über die Doppelbrechung der Chromatophoren. Protoplasma (D.) **29**, 203 (1937). — Becker, W. A., u. Z. Beckerowa: Zur Frage der Vitalfärbung der Meerescyanophyceen. Cellule (Belg.) **45**, 337 (1937). — Bentley, H. B.: Cell division in *Merismopedia glauca*. Rep. Brit. Assoc. **1907**, 693. — Bornet, E., et Chr. Flahault: Revision des Nostocacées hétérocystées. Ann. Sci. natur. Bot.,

VII. s. **3**, 323 (1886). — BORZI, A.: Le communicazioni intracellulari delle Nostochinee. Malpighia **1**, 28 (1886). — BRAND, F.: Bemerkungen über Grenzzellen und über spontan rote Inhaltskörper der Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **19**, 152 (1901). — Über das osmotische Verhalten der Cyanophyceenzelle. Ber. dtsch. bot. Ges. **21**, 302 (1903). — Über die sog. Gasvakuolen und die differenten Spitzenzellen der Cyanophyceen sowie über Schnellfärbung. Hedwigia **45**, 1 (1905). — BROWN, W. H.: Cell division in *Lyngbya*. Bot. Gaz. **51**, 390 (1911). — BÜTSCHLI, O.: Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890. — Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896. — CHADEFAUD, M.: Le mécanisme de la turgescence des cellules des algues bleues. C. r. Soc. Biol. **124**, 1171 (1937). — CHODAT, R., et MALINESCO: La structure cellulaire des Cyanophycées. Labor. bot. univ. Genève **1**, 62 (1893). — *Chroococcus turgidus*. Arch. Sci. phys. et math. Genève, III. s. **32**, 637 (1894). — Nuova Notarisia **1896**, 98. — CHOLNOKY, B. J. v.: Zur Kenntnis der Cyanophyceenzelle. Protoplasma (D.) **28**, 524 (1937). — CORRENS, C.: Über die Membran und die Bewegung der Oscillarien. Ber. dtsch. bot. Ges. **15**, 139 (1897). — CRATO, E.: Beiträge zur Anatomie und Physiologie des Elementarorganismus. Beitr. Biol. Pflanz. **7**, 407 (1896). — DANGEARD, P. A.: Observations sur le vacuome des Cyanophycées. C. r. Acad. Sci. Paris **197**, 1016 (1933). — DEHORNE, A.: Contribution à l'étude comparée de l'appareil nucléaire des Infusoires, des Euglènes et des Cyanophycées. Arch. Zool. exper. et gén. **60** (1920). — DEINEGA, V.: Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse über den Zellinhalt der Phycochromaceen. Bull. soc. imp. nat. Moscou, N. s. **5** (1892). — DELAPORTE, B.: Observations cytologiques sur *Spirulina versicolor* Cohn. C. r. Acad. Sci. Paris **210**, 305 (1940a). — Recherches cytologiques sur les Bactéries et les Cyanophycées. Rev. gén. bot. **51**, 615 (1939); **52**, 40 (1940b). — DRAWERT, H.: Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora (Jena) **132**, 91 (1937). — Über die Aufnahme und Speicherung von Prune pure durch die pflanzliche Zelle. Planta (Berl.) **29**, 179 (1938). — Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. IV. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes und des Außenmediums auf die Harnstoffaufnahme. Planta (Berl.) **35**, 579 (1948a). — V. Zur Theorie der Aufnahme basischer Stoffe. Z. Naturforsch. **3b**, 111 (1948b). — ELENKIN, A. u. A. DANILOV: Recherches cytologiques sur les cristaux et les grains de sécrétion dans les cellules de *Symploca muscorum* et quelques autres Cyanophycées. Bull. Jard. imp. bot. Pierre le Grand **16** (1916). — ELO, J. E.: Vergleichende Permeabilitätsstudien, besonders an niederen Pflanzen. Ann. bot. Soc. zool.-bot. Fenn. Van. **8**, 1 (1937). — ERRÉRA, L.: L'épiplasma des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. Bruxelles 1882. — FECHNER, R.: Die Chemotaxis der Oscillarien und ihre Bewegungserscheinungen überhaupt. Z. Bot. **7**, 289 (1915). — FISCHER, A.: Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. — Die Zelle der Cyanophyceen. Bot. Ztg. **63**, 51 (1905). — FRITSCH, F. E.: Studies on *Cyanophyceae*. I. Some points in the structure of an *Anabaena*. New Phytol. **3**, 85 (1904). — II. Structure of the investment and spore-development in some *Cyanophyceae*. Beih. Bot. Cbl. **18**, 194 (1905). — GARDNER, N. L.: Cytological studies in *Cyanophyceae*. Univ. Cal. publ. Bot. **2**, 237 (1906). — GAVAUDAN, P., et N. GAVAUDAN: Quelques remarques sur la cytologie des Oscillariées. Bull. Soc. bot. France **80**, 706 (1933). — GEITLER, L.: Versuche einer Lösung des Heterocystenproblems. S.ber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl., Abt. I **130**, 223 (1921). — Zur Cytologie der Blaualgen. Arch. Protistenk. **45**, 413 (1922). — Synoptische Darstellung der Cyanophyceen in morphologischer und systematischer Hinsicht. Beih. Bot. Zbl. B **41**, 163 (1925a). — *Cyanophyceae*. In PASCHERS Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der

Schweiz, H. 12. Jena 1925 (b). — Über die am besten bekannten, ältesten Organismen. Naturw. **14**, 231 (1926). — *Cyanophyceae*. In RABENHORSTs Kryptogamenflora, Bd. 14. Leipzig 1932. — Grundriß der Cytologie. Berlin 1934. — Schizophyceen. In LINSBAUERS Handbuch der Pflanzenanatomie, Abt. II, Bd. IV/1, B. Berlin 1936. — Über den Granabau der Plastiden. Planta (Berl.) **26**, 463 (1937). — Der Zusammenhang der Zellen fadenförmiger Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 163 (1938). — GLADE, K.: Zur Kenntnis der Gattung *Cylindrospermum*. Beitr. Biol. Pflanz. **12**, 295 (1914). — GOMONT, M.: Monographie des Oscillariées. Ann. Sci. natur. Bot., VII. s. **15**, 263 (1892). — GONÇALVES DA CUNHA, A.: Sur la signification du corps central des Cyanophycées. C. r. Soc. Biol. **118**, 1122 (1935). — GUILLIERMOND, A.: Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. Rev. gén. Bot. **18**, 392 (1906). — Recherches sur le chondriome des Algues et des Champignons. Rev. gén. Bot. **27**, 193 (1915). — Nouvelles observations sur la structure des Cyanophycées. C. r. Acad. Sci. Paris **180**, 951 (1925a). — A propos de la structure des Cyanophycées. C. r. Soc. Biol. **93**, 1504 (1925b). — Nouvelles recherches sur la structures des Cyanophycées. Rev. gén. Bot. **38**, 129 (1926). — La structure des Cyanophycées. C. r. Acad. Sci. Paris **197**, 182 (1933a). — GUILLIERMOND, A., G. MANGENOT, et L. PLANTEFOL: Traité de cytologie végétale. Paris 1933b. — HANSGIRG, A.: Bemerkungen über die Bewegungen der Oscillarien. Bot. Ztg **41**, 831 (1883). — Ein Beitrag zur Kenntnis von der Verbreitung der Chromatophoren und Zellkerne bei den Phycochromaceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **3**, 14 (1885). — HARDER, R.: Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen *Nostoc punctiforme*. Z. Bot. **9**, 145 (1917a). — Über die Beziehungen des Lichtes zur Keimung von Cyanophyceensporen. Jb. Bot. **58**, 237 (1917b). — *Thallophyta*. In Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, 23./24. Aufl. Jena 1947. — HAUPT, A. W.: Cell structure and cell division in the *Cyanophyceae*. Bot. Gaz. **75**, 170 (1923). — HEGLER, R.: Untersuchungen über die Organisation der Phycochromaceenzellen. Jb. Bot. **36**, 229 (1901). — HIERONYMUS, G.: Beiträge zur Morphologie und Biologie der Algen. Beitr. Biol. Pflanz. **5**, 461 (1892). — HOLLANDE, A. CH.; Remarques au sujet de la structure cytologique des Cyanophycées. C. r. Soc. Biol. **109**, 1359 (1932). — Remarques au sujet de la structure cytologique de quelques Cyanophycées. Arch. Zool. exper. et gén. **75**, 145 (1933). — HOLLANDE, A., CH. et G. HOLLANDE: La structure cytologique des cellules des Cyanophycées. C. r. Soc. Biol. **110**, 680 (1932). — KLEBAHN, H.: Gasvakuolen, ein Bestandteil der Zellen der Wasserblüte bildenden Phykochromaceen. Flora (Jena) **80**, 241 (1895). — Neue Untersuchungen über Gasvakuolen. Jb. Bot. **61**, 535 (1922). — KLEIN, G.: Zur Chemie der Zellhaut der Cyanophyceen. S.ber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl. **124**, 529 (1915). — Anz. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl. **52**, 246 (1915). — KÖHLER, A., u. W. LOOS: Das Phasenkontrastverfahren und seine Anwendung in der Mikroskopie. Naturw. **29**, 49 (1941). — KOHL, F.: Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle und die mitotische Teilung ihres Kerns. Jena 1903. — Zur Frage nach der Organisation der Cyanophyceenzelle und nach der mitotischen Teilung ihres Kernes. Beih. Bot. Cbl. **18**, 1 (1905). — KRENNER, I. A.: Über die Bewegung der Oscillarien. Arch. Protistenk. **51**, 530 (1925). — KÜSTER, E.: Pathologie der Pflanzenzelle. I. Pathologie des Protoplasmas. Protoplasma-Monographien, Bd. 3. Berlin 1929. — Die Pflanzenzelle. Jena 1935. — Ergebnisse und Aufgaben der Zellmorphologie. Dresden u. Leipzig 1942. — Quellung und Entquellung des pflanzlichen Protoplasmas. Beobachtungen an Cyanophyceen. Z. Mikrosk. **59**, 167 (1943). — LANZ, J.: Intravaginale Protoplasmaeinschlüsse bei Oscillatoriaceen. Arch. Protistenk. **91**, 319 (1938). — LEE, S.: Cytological study of *Stigonema mammillosum*. Bot. Gaz. **83**, 420 (1927). — MÄGDEFRAU, K.: Untersuchugnen über die Wasserdampfaufnahme der Pflanzen

Z. Bot. **24**, 417 (1931). — MARX, F. A.: Untersuchungen über die Zellen der Oscillarien. Diss. Erlangen 1892. — MASSART, J.: Recherches sur les organismes inférieurs. V. Sur le protoplasme des Schizophytes. Mém. Acad. Sci. lett. Belgique **61** (1901). — MEYER, A.: Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Ztg **62**, 113 (1904). — MOCKERIDGE, F. A.: An examination of *Nostoc* for nuclear materials. Brit. J. exper. Biol. **4**, 301 (1927). — MÜHLDORF, A.: Das plasmatische Wesen der pflanzlichen Zellbrücken. Beih. Bot. Cbl. A **56**, 171 (1937). — Einige Betrachtungen zur Membranmorphologie der Blaualgen. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 316 (1938). — Beiträge zur Frage über das Vorkommen von Zellbrücken bei den Cyanophyceen und Rhodophyten. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 16 (1938). — NADSON, G.: Über den Bau des Cyanophyceenprotoplasten. Scripta Bot. St. Petersburg **4** (1895). — NEUMANN, FR.: Die Frage nach dem Kern der Bakterien und ihre Beantwortung mit Hilfe der Nuklealfärbung. Berl. tierärztl. Wschr. **1930**, 101. — OLIVE, E. W.: Mitotic division of the nuclei of the *Cyancphyceae*. Beih. Bot. Cbl. **18**, 9 (1905). — PALLA, E.: Beitrag zur Kenntnis des Baues des Cyanophyceen-Protoplastes. Ber. dtsch. bot. Ges. **11**, 394 (1893). — Beiträge zur Kenntnis des Baues des Cyanophyceen-Protoplastes. Jb. Bot. **25**, 511 (1893). — PETTER, H. F. M.: La réaction nucléale de FEULGEN chez quelques végétaux inférieurs. C. r. Acad. Sci. Paris **197**, 88 (1933). — PHILLIPS, O. P.: A comparative study of the cytology and movements of the *Cyanophyceae*. Contrib. bot. Lab. Univ. Pennsylvania **2**, 237 (1904). — POLJANSKY, G., u. G. PETRUSCHEWSKY: Zur Frage über die Struktur der Cyanophyceenzelle. Arch. Protistenk. **67**, 11 (1929). — PRAT, S.: Plasmolyse des Cyanophycées. Bull. internat. Acad. Sci. Bohème Prag **1921**. — Beitrag zur Kenntnis der Organisation der Cyanophyceen. Arch. Protistenk. **52**, 142 (1925). — Über Vitalfärbung der Meeres-Cyanophyceen. Protoplasma (D.) **12**, 397 (1931). — RUHLAND, W.: Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jb. Bot. **46**, 1 (1908). — RUHLAND, W., u. C. HOFFMANN: Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Planta (Berl.) **1**, 1 (1925). — SAUVAGEAU, C.: Sur l'état coccoide d'un *Nostoc*. C. r. Acad. Sci. Paris **115**, 323 (1892). — SCHMID, G.: Über die vermeintliche Einzelligkeit der Spirulinen. Ber. dtsch. bot. Ges. **38**, 368 (1920). — Über Organisation und Schleimbildung bei *Oscillatoria Jenensis* und das Bewegungsverhalten künstlicher Teilstücke. Jb. Bot. **60**, 572 (1921). — Das Reizverhalten künstlicher Teilstücke, die Kontraktilität und das osmotische Verhalten der *Oscillatoria Jenensis*. Jb. Bot. **62**, 328 (1923). — SCHÖNLEBER, K.: *Scytonema Julianum*. Beiträge zur normalen und pathologischen Zytologie und Zytogenese der Blaualgen. Arch. Protistenk. **88**, 36 (1936). — Über die Vitalfärbung der Cyanophyceen. Zytomorphologische Beobachtungen an einer epiphyllen Form. Z. Mikrosk. **54**, 204 (1937). — SCHORR, L.: Beobachtungen an isoliertem Cyanophyceen-Protoplasma. Protoplasma (D.) **31**, 540 (1938). — SPEARING, J. K.: Cytological studies of the *Myxophyceae*. Arch. Protistenk. **89**, 209 (1937). — STOCKMAYER, S.: Über Spaltalgen. Ber. dtsch. bot. Ges. **12**, 102 (1894). — STROH, L.: Über prämortale Mazeration bei Oscillatorien. Arch. Protistenk. **91**, 187 (1938). STRUGGER, S.: Beiträge zur Gewebephysiologie der Wurzel, zur Analyse und Methodik der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma (D.) **24**, 108 (1935). — Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma (D.) **26**, 56 (1936). — SWELLENGREBEL, N.: Note on the cytology of *Calothrix fusca*. Quart. J. microsc. Sci. **54**, 623 (1910). — TANGL, M. E.: Zur Morphologie der Cyanophyceen. Denkschr. Math.-naturw. Kl. Akad. Wiss. Wien **48**, 1 (1883). — ULLRICH, H.: Über die Bewegungen von Beggiatoaceen und Oscillatoriaceen. II. Planta (Berl.) **9**, 144 (1929). — WAGER, H.: The cell structure in *Cyanophyceae*. Proc. roy. Soc., Lond. **72** (1903). — WALTER, H.: Die Hydratur der Pflanze. Jena 1931. — WEBER, FR.: Zur Doppelbrechung des

Cyanophyceen-Chromatoplasmas. Protoplasma (D.) **32**, 142 (1939). — WENT, F. A. F. C.: Die Vermehrung der normalen Vakuolen durch Teilung. Jb. Bot. **19**, 295 (1888). — WESTER, D. H.: Studien über das Chitin. Arch. Pharmacie **247**, 282 (1909). — WISSELINGH, C. v.: Mikroskopische Untersuchungen über die Zellhaut der Fungi. Jb. Bot. **31**, 619 (1897). — ZACHARIAS, E.: Über die Zellen der Cyanophyceen. Bot. Ztg **48**, 2 (1890). — Über die Zellen der Cyanophyceen. Bot. Ztg **50**, 617 (1892). — Über die Cyanophyceen. Abh. Naturw. **16** (1900). — Über die Cyanophyceen. Jb. hambg. wiss. Anst. **21**, 49 (1904). — ZOPF, W.: Zur Kenntnis der Spaltalgen (*Schizophyceae*). Bot. Zbl. **10**, 32 (1882). — Weitere Stützen für meine Theorie von der Inkonstanz der Spaltalgen (Phycochromaceen). Ber. dtsch. bot. Ges. **1**, 319 (1883). — ZUKAL, H.: Über die Entstehung einiger *Nostoc*- und *Gloeocapsa*-Formen. Öst. bot. Z. **1889**. — Über den Zellinhalt der Schizophyten. S.ber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl. **101**, 301 (1892). — Neue Beobachtungen über einige Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **12**, 256 (1894). — Über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien mit besonderer Beziehung auf den Standpunkt BÜTSCHLIS. Ber. dtsch. bot. Ges. **14**, 331 (1896).

Dr. HORST DRAWERT, (15b) Jena, Botanisches Institut.

Planta, Bd. 37, S. 210—220 (1949).

ÜBER MEMBRANGÜRTEL UND PROTOPLASMA VON CODIUM*.

BEITRÄGE ZUR PATHOLOGIE DER PFLANZENZELLE.

Von

ERNST KÜSTER.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Oktober 1948.)

Die ersten Beispiele für zellulosige Degeneration des Protoplasmas, d. h. diejenige, bei welcher das eiweißreiche Plasma sich zu einer festen Masse verwandelt, die physikalisch, chemisch oder optisch sich ähnlich verhält wie die Zellwandsubstanz, sind bei Untersuchung der höheren Pflanzen bekannt geworden — an den Zellen reifender Perikarpe, den Embryosäcken verschiedener Dikotyledonen u. a. m. (Literatur bei KÜSTER 1935, S. 97). Erst später wurden die Zellforscher auf die Degenerationserscheinungen aufmerksam, die am Protoplasma der Siphoneen sich abspielen, und die in mehr als einer Beziehung besondere Beachtung verdienen — ebenso sehr durch die Ausdehnung der der Degeneration anheimfallenden Protoplasmamassen, wie durch die Schnelligkeit, mit der in manchen Fällen die Degeneration sich vollzieht, und die Mannigfaltigkeit der Qualitäten, die die degenerierten Massen bei verschiedenen Gattungen und Arten und sogar an den Zellen einer und derselben Spezies oder des Individuums annehmen.

Über die an Siphoneen beobachteten Formen degenerierten Plasmas liegen bereits zahlreiche Mitteilungen vor; über *Codium* schrieb KÜSTER (1933, 1935), über *Bryopsis* derselbe (1899, 1933) und NOLL (1887); *Caulerpa* ist nach denselben Gesichtspunkten wiederholt untersucht worden (vgl. MIRANDE 1915; KÜSTER 1932; 1935, S. 97). Über die erstgenannte Gattung sollen die folgenden Seiten erneut berichten und zum Ausblick auf vergleichbare Phänomene, die an höheren und niederen Pflanzen beobachtet worden sind, anregen.

Was die Zellen des *Codium*thallus bei einer Prüfung auf degeneriertes Protoplasma zu ergebnisreichen Objekten werden läßt, ist der Umstand, daß Vorgänge der Degeneration bei ihnen zur Produktion verschiedenartiger Massen führen können; zugleich fällt auf, daß jene Vorgänge an sehr zahlreichen Stellen eines Protoplasten auftreten können und bei manchen Materialproben in keinem Präparate vermißt

* Herrn Prof. Dr. G. TISCHLER zum 70. Geburtstag gewidmet.

werden; stets sehen wir streckenweise kleine oder große Plasmaanteile degenerieren, so daß die lebendige Masse der Zellinhalte von ihnen zerstückt erscheint. In weitaus den meisten Fällen werden die bekannten Membrangürtel der *Codium*fäden und die sie durchsetzenden Protoplasmastränge zu Ausgangspunkten der Degenerationsvorgänge.

Die Gürtel sind bereits wiederholt, besonders eingehend von MIRANDE (1915) untersucht worden, der namentlich den Veränderungen nachgegangen ist, welche sie in der normalen Zytogenese durchmachen, und die Mannigfaltigkeit der Bilder beschrieben hat, die nach Quellung und Lösung der Zellwandsubstanz, später nach Neuablagerung von solcher an ihnen wahrnehmbar werden (*C. tomentosum*, *C. bursa*).

Abb. 1. Membrangürtel mit halbkugeligem Stöpsel degenerierten Protoplasmas.

Meine an Material der deutschen Nordseeküste gesammelten Erfahrungen stimmen mit den von MIRANDE mitgeteilten im wesentlichen überein.

Vor den degenerativen Veränderungen des Protoplasmas, die von den Membrangürteln und ihren Poris auszugehen pflegen, spielen sich an den zellulosigen Gürteln Lösungserscheinungen ab. Solche sind auch von anderen Membranhäufungen des *Codium*thallus her bekannt: MICHEL (1938) hat die Rotationshohlkörper beschrieben, die — vielleicht unter der Einwirkung von Bakterien — in die zellulosigen Mukronen der Palisadenschläuche hineingelöst werden können; bescheidenere Lösungswirkungen habe ich auch an dem Mukro der Zellen meines Nordseematerials gesehen — oftmals zusammen mit Bakterienhäufungen auf dem Scheitel der Palisaden. Eine ihren oft deutlich sichtbaren Schichten folgende Abtragung der Gürtelsubstanz spielte an meinem Nordseematerial eine geringe Rolle gegenüber einer die zellulosige Masse unregelmäßig zerklüftenden Korrosion und namentlich der Bildung von zwei ringförmigen Spalten, die einen mittleren Kern aus der Substanz des Gürtels herausschneiden; dieser mittlere Anteil quillt, sein Lichtbrechungsvermögen wird schwach; zuweilen setzt er sich durch seine Farblosigkeit von den schwach gelb gefärbten Randanteilen ab. Die in die Gürtelsubstanz hineingelösten Hohlräume schneiden die Außenwand der Fäden schiefwinklig; das zwischen ihnen liegende Membranstück hat Kegelstumpfgestalt. Der Abstand der beiden kegelmantelähnlichen Spalten vom Mittelpunkt des ganzen Systems wechselt; der Winkel, unter dem sie die Außenwelt schneiden, ist selbst an *einem* Membrangürtel nicht immer derselbe. Abb. 2 veranschaulicht die Mannigfaltigkeit dieser Lösungsspalten — namentlich auch solcher, die auf dem optischen Längsschnitt und im Flächenbild

keinen geraden, sondern treppenartig gestuften Verlauf nehmen. Selten sieht man nur *eine* Spalte sich entwickeln, noch seltener deren drei. Niemals habe ich in noch nicht angegriffenen Membrangürteln eine Struktur wahrnehmen können, welche die örtliche Determinierung der Lösungsspalten erklären könnte.

Über die Mannigfaltigkeit der Lösungsbilder hat bereits MIRANDE (1915) ausführlich geschrieben: Man findet selbst in einem reichen Material kaum zwei Gürtel, die hinsichtlich der Lösungserscheinungen miteinander völlig übereinstimmten. Sehr häufig fand ich Lösungsfiguren, die den von MIRANDE (1915, Abb. 24, 25) abgebildeten oder dem von ihm dargestellten Zerfall der Membrangürtel (a. a. O., Abb. 30) entsprechen; selten waren schlitzförmige Hohlräume, die der Richtung der Membranlamellen des Gürtels folgten.

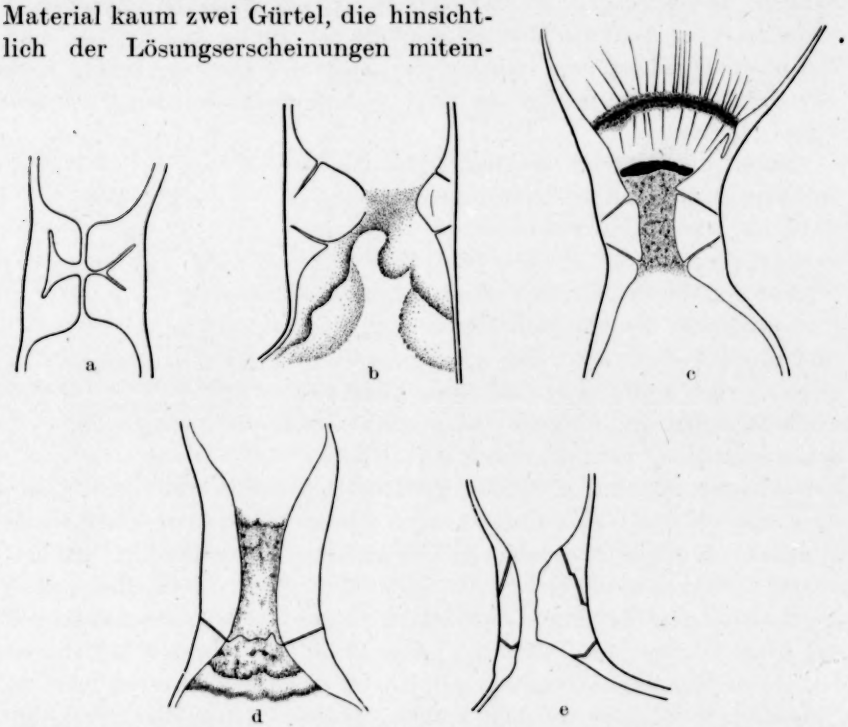


Abb. 2 a–e. Lösungsfiguren in den Zellwandgürteln. a—e verschiedene Formen der Lösungsspalten; bei a fehlen die degenerierten Massen; bei c klare Platte unter der körnigen Degenerationsmasse, unter jener ringförmiger Belag der letzteren; d und e Lösungsspalten mit zickzackähnlich gebrochenem Verlauf.

Die Lösungsspalten bleiben nicht immer schmal, sondern können breit keilförmig sich öffnen — je nach dem Fortgang, den die Lösungserscheinungen nehmen, und der Quellung, die das Mittelstück der Membrangürtel erfährt (MIRANDE 1915).

Nicht mit befriedigender Sicherheit kann ich mich darüber äußern, ob die abgebauten Gürtel wieder eine „réédification" erfahren können, wie MIRANDE es für *Codium bursa* annimmt (vgl. 1915, S. 228). Bilder, die seiner Abbildung (a. a. O. Abb. 32 rechts) entsprechen, sind mir wiederholt begegnet; doch möchte ich mit einer Äußerung über ihr Zustandekommen zurückhalten, bis ich Gelegenheit finde, an mediterranem Material meine Beobachtungen zu ergänzen.

Wir wenden uns jetzt der Schilderung der Veränderungen zu, die das Protoplasma an den Membrangürteln erfährt; MIRANDE (1915) hat ihm wiederholt seine Aufmerksamkeit geschenkt und die Kontinuität des Protoplasmas geprüft, die Störungen derselben und die Wiederherstellung unterbrochener Kontinuität beschrieben.

Sehr oft sieht man die Poren der Membrangürtel durch einen kurzen Stift erstarrten Plasmas verschlossen; in vielen anderen Fällen schließt sich beiderseits oder nur an einer Seite eine mehr oder minder umfangreiche körnige Masse wechselnder Form an den Gürtelporus und seine tote Füllung an. Der Degenerations- und Erstarrungsvorgang kann fortschreiten, so daß ansehnlich lange Strecken der Fäden sich mit toter Masse füllen, und die lebenden Protoplastenstücke durch sie weit voneinander getrennt erscheinen. Dort, wo die englumigen Fadenstücke in einen weitlumigen Palisadenschlauch münden, sehen wir nicht nur jenes völlig von degenerierter Masse versperrt, sondern auch den Palisadenschlauch mit über 100 μ hohen Erstarrungsmassen erfüllt (Abb. 1). Trotz dem Umfange der desorganisierten Massen habe ich bei *Codium* niemals bemerkt, daß ihrer Häufung erst durch die nächstfolgende Striktur des Lumens und den nächsten Zellwandgürtel ein Ende festgelegt würde; dieser Umstand darf erwähnt werden, da bei *Udotea* nach ERNST (1904) die durch Trauma bewirkte Veränderung des betroffenen Protoplasmas bis zur nächsten Lumenstriktur vorschreitet (Abb. 4).

Ich muß dahingestellt bleiben lassen, ob die von MIRANDE beschriebenen „trabécules protoplasmiques" und die sie auskleidenden „formations membraneuses" (1915, S. 223; Abb. 24, 25) etwas mit den hier erwähnten nekrotischen Verschlüssen zu tun haben.

Überall da, wo die Membrangürtel durch Lösung starke Einbuße an ihrer Substanz erlitten haben, füllen sich die Lücken durch die erwähnte körnige Masse: neben dieser oder in ihr wird sehr häufig ein weiteres Degenerationsprodukt sichtbar: in den Spalten der Gürtel oder außerhalb des Gürtels entstehen einzeln, seltener zu zwei glasklare farblose Platten. Vielleicht hat MIRANDE ähnliche Bildungen vor sich gehabt — es wäre möglich, daß die von ihm für *Bryopsis* beschriebenen Verschlußdeckel (1913, S. 209; Abb. 16 *B*) hier genannt werden dürfen; allerdings nennt MIRANDE sie geschichtet. In den Figuren habe ich die

glasklaren Massen durch schwarze Füllung kenntlich gemacht; sie liegen zentriert oder exzentrisch, dünn-linsenähnlich oder als niedrige Kegelstümpfe mit ebenen Endflächen stets senkrecht zur Fadenlängsachse.

Weder bei den körnigen Massen, durch welche die vor den Gürteln liegende Strecke des Lumens erfüllt und abgesperrt werden kann, noch bei den klaren Platten ließ sich mit den mir zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln optische Anisotropie nachweisen. Ich bemerke, daß auch

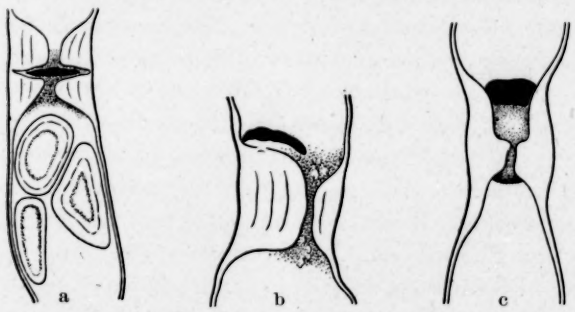


Abb. 3a–c. Klare Platten verschiedener Form und Lage innerhalb der Lösungsspalten (a) oder außerhalb derselben (b, c); bei a drei geschichtete scheibenähnliche Niederschlagskörper.

die normalen Zellwandgürtel meines Materials nur schwach doppelbrechend waren — im Gegensatz zu den deutlich anisotropen normalen dünnen Wänden.

Die Füllung der englumigen Schläuche mit der toten Masse degenerierten Protoplasmas wird überall dort, wo beide bisher beschriebenen Degenerationsformen vorliegen, zunächst durch die körnigen Massen, hiernach durch die glasklaren Deckel erreicht. Auf diese folgt als dritte und letzte Verschlußart eine der normalen Zellwand gleichende Restitutionsmembran; diese ist deutlich optisch anisotrop. Der „Heilungsvorgang" ist mit dieser Membranbildung geschlossen, oder wir sehen die letztere sich noch einmal wiederholen, indem das Protoplasma sich von der Restitutionsmembran abhebt und in geringem Abstand von der ersteren eine zweite bildet — Vorgänge solcher rhythmischer Membranbildung sind für *Vaucheria* (vgl. z. B. MIRANDE 1915, S. 195 [1]) und andere Siphoneen längst bekannt; besonders instruktive Bilder liefert *Bryopsis* (vgl. KÜSTER 1929 und BECKEROWA 1935); für *Derbesia*

[1] Bei einer genaueren zellphysiologischen Analyse der Vernarbung durch rhythmische Zellwandbildung wird wohl eine Unterscheidung derjenigen Fälle, in welchen zwischen je zwei Lamellen ein leerer oder ein mit Plasmaresten ausgestatteter Raum erhalten bleibt, von anderen, in welchen lückenlos eine Lamelle auf der anderen liegt und eine einheitliche dicke geschichtete Membran zustande kommt, unerläßlich werden.

beschrieb KLEMM (1894, besonders Tafel V, Fig. 6) bereits Ähnliches[1]. Auch MIRANDE hat sie gesehen.

Die Kanten der Korrosionsruinen, die klaren Platten und die zuletzt gebildeten Restitutionsmembranen tragen in das Bild der Membrangürtel eine Reihe von Querlinien ein, deren Zustandekommen schwierig zu deuten sein kann.

Die Beziehungen, die zwischen Gürtelbildung und den an den Gürteln verwirklichten plasmaphysikalischen Bedingungen einerseits, der Anhäufung degenerierten Plasmas andererseits bestehen, werden bei der Durchsicht zahlreicher Präparate immer wieder deutlich und bleiben auch dann erkennbar, wenn einmal atypischerweise die weiten Lumina der Palisadenschläuche von ähnlichen Gürteln eingeengt werden, wie sie tausendfältig an den englumigen Schläuchen des *Codium*thallus gefunden werden. Obwohl in solchen seltenen Fällen ein weiter Porus unverschlossen bleibt, kann an ihnen eine Zerlegung des Palisadenprotoplasten und eine Bildung von Restitutionsmembranen einsetzen, welche die beiden ungleich großen Teilstücke umhäuten, nachdem im Porus des Membrangürtels ein Teil des Protoplasmas zu körniger Degeneration gekommen ist (Abb. 4); Gürtelbildungen dieser Art habe ich nur sehr selten beobachtet (Nordseematerial).

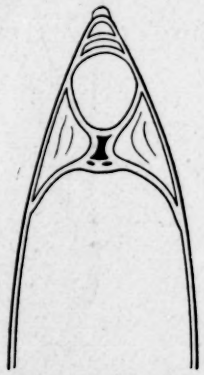


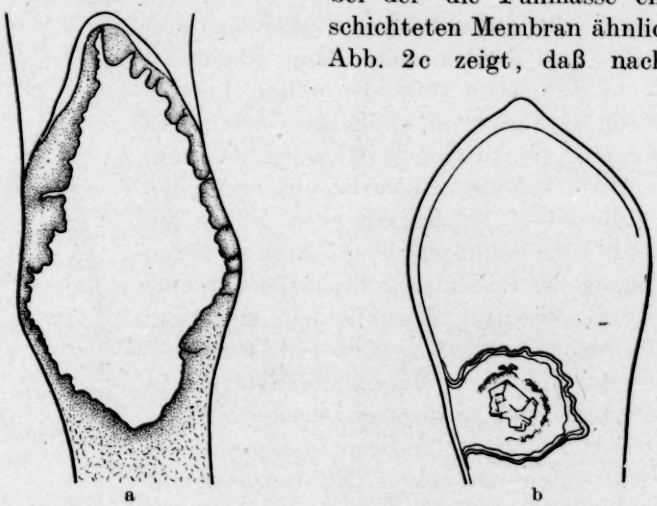
Abb. 4. Gürtelbildung im Palisadenschlauch.

Es scheint indessen, daß die gleichen Degenerationsvorgänge oder sehr ähnliche von der Gürtelbildung unabhängig werden können. Mehrfach zu Gesicht gekommen sind mir krümelige kreisrunde oder ovale Niederschlagsmassen, die sich rahmenartig auf der Wand der *Codium*schläuche bilden können, und deren rundliche oder kantige Partikel — optische Anisotropie konnte ich auch an ihnen nicht nachweisen — den körnigen Anteilen der vorhin beschriebenen Degenerationsmassen ähnlich sind. Abb. 5a zeigt ein solches Oval, dessen körnige Niederschlagsmasse an einer Seite noch einen hyalinen Saum trägt. Zuweilen läßt sich an solchen Niederschlagsfeldern Neigung zur Bildung konzentrischer Ringe erkennen. Einen ähnlichen Niederschlagsring zeigt Abb. 5b; in seinem Inneren liegt eine ansehnlich große Kristallmasse. Es mag fraglich bleiben, ob auch die in Palisadenschläuchen häufigen 5—20 μ großen Niederschlagsscheibchen, die der

[1] Noch reichlichere Folgen von Membrankappen entwickeln sich — anscheinend ohne lokale Nekrose — an den Scheiteln vieler Palisadenschläuche von *Codium tomentosum*, besonders der spitzkegelförmig ausgezogenen, die unter den schmaleren Palisaden häufig sind, während bei den breiten flachen fast ebene Kuppen vorherrschen.

Membran innen zu 20—100 anliegen und durch basische Farben (Methylenblau, Neutralrot) leicht zu färben sind, in dieselbe Reihe von Degenerationsprodukten zu rechnen sind. Auch sie zeigen oftmals Neigung zur Bildung von konzentrischen Ringen; Abb. 3a zeigt eine Füllung des Lumens mit körnigen Massen, auf welche ein von besagten Niederschlagsscheiben gebildetes Pflaster folgt.

Die Neigung zu rhythmischer Entwicklung fehlt auch den zuerst beschriebenen körnigen Füllmassen keineswegs. Ich verweise auf Abb. 6, bei der die Füllmasse einer geschichteten Membran ähnlich wird. Abb. 2c zeigt, daß nach einer



a b

Abb. 5 a u. b. Rahmenförmige Niederschlagskörper; bei a ohne, bei b mit zentralem Kristallkörper.

niederschlagsfreien Zone sich ein neuer Saum von Niederschlagspartikeln bilden kann. Sehr häufig ist der Fall, daß strukturell verschiedene Degenerationsmassen einander folgen (Abb. 7); wiederholte Überlagerung bringt in manchen Schläuchen traubige Bilder zustande (Abb. 8).

Die für Häufung degenerierten Protoplasmas bevorzugten Stellen sind in den Fäden des *Codium*thallus die Membrangürtel — auf mehrere Hundert der sie füllenden Plasmastöpsel kommen nur wenige ähnliche an anderen Stellen gelegene Massen. Beziehungen zu anderen morphologischen Charakteren der Zelle zeigen diese z. B. dann, wenn sie die Spitzen der Palisaden füllen. Solche Fälle habe ich bei *Codium tomentosum* freilich nur vereinzelt gefunden, und zwar bei schlanken, apikulaten Palisaden; sie verdienen aber Beachtung durch die Übereinstimmung mit den an *Caulerpa* gefundenen Spitzendesorganisationen (WEBER VAN BOSSE 1898, S. 263; MIRANDE 1915, S. 241 und Abb. 41). Auch für *Bryopsis* sind Spitzenfüllungen bekannt (KÜSTER 1935, S. 96),

ohne freilich hier ausgesprochene Bevorzugung bestimmter Zellenorte erkennen zu lassen.

Über die Schnelligkeit, mit der die Degeneration des *Codium*-Protoplasmas sich vollzieht und die beschriebenen Phasen und Formen produziert, kann ich keine Angaben machen; niemals habe ich unter dem Mikroskop an *Codium* eine so stürmisch verlaufende, in wenigen Sekunden sich vollziehende Degeneration wahrnehmen können wie an *Bryopsis* (KÜSTER 1898).

Die Mannigfaltigkeit der an *Codium*fäden sichtbaren Degenerationsmassen ist mit dem Gesagten noch nicht erschöpft. Hier und da kommt es vor, daß die dünnen Schläuche sich kurze oder lange

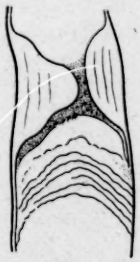


Abb. 6.

Abb. 7.

Abb. 8.

Abb. 6. Reichgeschichtete membranähnliche Degenerationsmasse.
Abb. 7. Körnige gezonte Degenerationsmasse.
Abb. 8. Traubige Degenerationsmasse.

Strecken weit (bis mehrere 100μ) mit einer durchsichtigen, geschichteten, gallertigen Masse füllen (Abb. 9); es gewinnt den Anschein, daß in ihnen kleine Einschlüsse geordnet liegen — in parallel gerichteten Schichten oder in bogigen Zügen, die an die Darstellungen der sog. flutenden Protoplasmabewegung und deren Kurven erinnern (Abb. 9). Die Einschlüsse sind ebenso wie die sie umgebende Gallert farblos; ob sie mit den Chloroplasten in Zusammenhang gebracht werden dürfen, erscheint fraglich; ich konnte an ihnen weder Chlorophyllreste noch Doppelbrechung nachweisen — vielleicht sind die Massen den strähnigen Degenerationsprodukten des *Caulerpa*-Protoplasmas vergleichbar (KÜSTER 1932); zu den Membrangürteln haben sie anscheinend keine Beziehung. Nur einmal ist mir an meinem Nordseematerial eine auf der Oberfläche plasmolytisch kontrahierten Protoplasmas entstandene gallertige hyaline Masse aufgefallen, in deren Bildung ich ebenfalls eine Degenerationsform des Protoplasmas sehen möchte; der von seiner Membran abgehobene Protoplasmaschlauch hatte sich mit einer Hülle umgeben, die ihn wie eine Restitutionsmembran umgab,

durch ihre Mächtigkeit aber eine solche weit übertraf und den Gallertscheiden mancher Blaualgen ähnlich wurde (Abb. 10).

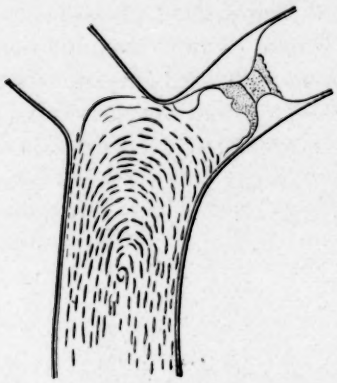
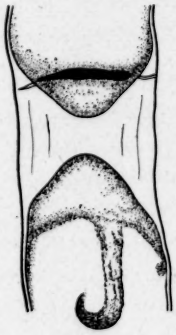


Abb. 9. Gallertige Degenerationsmasse.

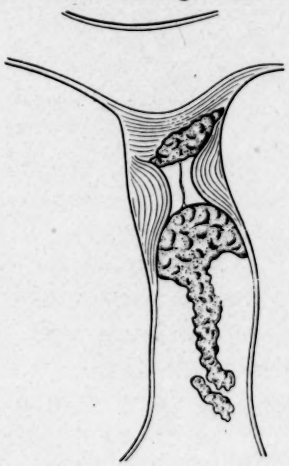
Die Morphologie der beschriebenen Plasmamassen zeigt uns diese in ähnlichen Formen, wie wir sie von dem

Abb. 10. Gallertige Hüllschicht eines kontrahierten Protoplasten; darüber klare deckelähnliche Degenerationsmasse.

lebendigen Protoplasma kennen; diese Übereinstimmung stützt unsere Annahme, die in den beschriebenen Gebilden degeneriertes Protoplasma sieht. Für die plasmamorphologische Beurteilungsweise wichtig scheinen mir die perlen- und kugelförmigen Massen, zu welchen das Protoplasma in den *Codium*fäden ebenso wie



a



b

Abb. 11a u. b. Degenerationsmassen, deren Form die eines zentralen Plasmafadens wiederholt.

in pflanzlichen Zellen anderer Herkunft sich vor oder bei der Degeneration sammelt (KORN 1945: Beobachtungen an *Urtica*), sowie die schwanzähnlichen Stücke, zu welchen die degenerierte Masse oft geformt erscheint, wenn es zur Erstarrung zentraler Plasmafäden kommt (Abb. 11).

Der Vergleich der für *Codium* beschriebenen mit den aus der Literatur bereits bekannten Degenerationsbildungen anderer Art ruft

den Umstand in Erinnerung, daß auch an diesen die Degeneration des Protoplasmas Beziehungen zu irgendwelchen Membranporen oder Tüpfeln erkennen läßt. An erster Stelle nenne ich die Deckel, die die Tüpfel in den Querwänden mancher Rotalgen unvollkommen verschließen und den für *Codium* beschriebenen klaren Platten ähnlich zu sein scheinen; sie haben die Aufmerksamkeit der Zellforscher schon wiederholt auf sich gelenkt (vgl. z. B. JUNGERS 1933; KÜSTER 1935, S. 103; KYLIN 1940). Ferner sind die Kallusplatten der Siebröhren zu erwähnen; sie bestehen aus einer der Zellwandsubstanz ähnlichen, optisch schwach anisotropen Substanz (vgl. KÜSTER 1949; dort weitere Literaturnachweise), die ich als degeneriertes Protoplasma anzusprechen keine Bedenken trage. Näherer Untersuchung bedürfen die oft ansehnlich substanzreichen festen Massen, die sich in den Zellen der Staminalhaare von *Tradescantia virginica* niederschlagen und die unmittelbare Umgebung der schmalen Querwände bevorzugen.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend dürfen wir über die mitgeteilten Befunde folgendermaßen berichten:

1. Die Fäden des *Codium*thallus entwickeln unabhängig von groben mechanischen Eingriffen, in ihrem Lumen gewaltige Mengen erstarrten degenerierten Protoplasmas. Sie übertreffen in diesem Punkte die Plasmodien der Myxomyzeten, wohl auch die Phykomyzeten und Pollenschläuche; mit ihnen vergleichbar sind die großlumigen Brennhaare der *Urtica*, die freilich nur gelegentlich zur Bildung umfangreicher Massen degenerierten Plasmas kommen, während an manchen Materialproben von *Codium* Vorgänge dieser Art hundert- und tausendfältig zu beobachten sind.

2. Bildung und Anhäufung degenerierten Protoplasmas in den Poris der Membrangürtel von *Codium* sind ein Glied in einer Reihe pathologischer Vorgänge, die mit der Produktion einer den normalen Protoplasten von der degenerierten Plasmamasse trennenden Restitutionsmembran endet; mit dieser wird der „Heilungsvorgang" beschlossen, das lebendige Protoplasma ist nunmehr allseits wieder von einer typischen Zellhaut bedeckt.

3. Ausgangspunkte des Degenerationsvorganges sind vor allem die in den *Codium*fäden entwickelten Membrangürtel und ihre Pori. Die Degeneration des Plasmas kann sich auf ihr Lumen beschränken und es auf weite Strecken füllen — oder sogar in das der weiten Palisadenschläuche dringen.

4. Das Protoplasma liefert bei seiner Degeneration Massen verschiedener Beschaffenheit — körnige und klare, feste und gallertweiche, geschichtete und homogene. In *einer* Degenerationsmasse folgen einander verschiedenartige Erstarrungsmassen.

5. Die Produktion körniger und hyaliner Degenerationsmassen und der Restitutionsmembranen kann sich mehrere Male abspielen. Der periodische Verlauf, den der Heilungs- und Vernarbungsvorgang bei *Codium* nimmt, entspricht den von *Caulerpa*, *Bryopsis*, *Derbesia* her bekannten Vorgängen.

6. Über die Bedingungen, die über die Qualität der Degenerationsmassen entscheiden, ist nichts bekannt. Aus dem Umstand, daß zunächst stets körnige Degenerationsmassen, später auch glasklare und zuletzt typische zellulosige Massen entstehen, darf geschlossen werden, daß die maßgebenden Bedingungen im Laufe des Vernarbungsvorganges sich ändern.

Literatur.

Beckerowa: Z., Über Zellsaft und Tonoplasten von *Bryopsis*. Protoplasma **23**, 384 (1935). — Ernst, A.: Siphoneenstudien. II. Beih. Bot. Zbl. **16**, 199 (1904). — Jungers, V.: Recherches sur les plasmodesmes chez les végétaux. II. Les synapses des algues rouges. Cellule (Belg.) **47**, 5 (1933). — Klemm, P.: Über die Regenerationsvorgänge bei den Siphonaceen. Flora (Jena) **78**, 19 (1894). — Korn, Ch.: Die Vernarbung der Brennhaare. Einige Beiträge zur Pathologie der Pflanzenzelle. Diss. Gießen 1945. — Küster, E.: Über *Derbesia* und *Bryopsis*. Ber. dtsch. bot. Ges. **17**, 77 (1899). — Über adriatische Codiaceen. Flora (Jena) **1898**. — Pathologie der Pflanzenzelle. I. Pathologie des Protoplasmas. Protoplasmamonographien. **3**. Berlin 1929. — Die Protoplasmablasen der *Caulerpa*. Protoplasma (D.) **16**, 215 (1932). — Über Zellsaft, Protoplasma und Membran von *Bryopsis*. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 216 (1933). — Die Plasmodesmen von *Codium*. Protoplasma (D.) **19**, 335 (1933). Die Pflanzenzelle. Jena 1935. — Beiträge zur Kenntnis der Siebröhren und Siebplatten. Z. Mikrosk. **1949**. — Kylin, H.: Über den Bau der Florideentüpfel. Fysiogr. Sällsk. Lund Forh. **10**, Nr 21 (1940). — Michel, W.: Membranstudien an *Codium*. Arch. Protistenk. **91**, 292 (1938). — Mirande, R.: Recherches sur la composition chimique de la membrane et le morcellement du thalle chez les Siphonales. Ann. Sci. nat. bot. IX, **18**, 147 (1915). — Noll, F.: Experimentelle Untersuchungen über das Wachstum der Zellmembranen. Abh. Senckenberg. naturf. Ges., Frankf. M. **15**, 101 (1887). — Weber van Bosse, A.: Monographie des Caulerpes. Ann. Jard. bot. Buitenzorg. **15** (1898).

Prof. Dr. E. Küster, (16) Gießen, Wilhelmstraße 24.

Planta, Bd. 37, S. 221—243 (1949).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

ÜBER DEN WANDERUNGSWEG FLUORESZIERENDER FARBSTOFFE IN DEN SIEBRÖHREN.

Von

LEOPOLD BAUER.

(Eingegangen am 15. November 1948.)

A. Einleitung.

SCHUMACHER (1933) weist mit Recht nachdrücklich darauf hin, daß die unbedingte Voraussetzung für jede Theorie über die Mechanik der Stoffbewegung eine genaue Kenntnis darüber ist, in welchen Bestandteilen der Siebröhren der eigentliche Wanderungsvorgang verläuft. Nur die Einführung von körperfremden Indikatoren, deren Wanderung man verfolgt, kann aber eine Aussage über die Lokalisation der gesuchten Wanderbahn gestatten. Welche Schwierigkeiten der Deutung der Ergebnisse sich jedoch auch auf diesem Wege ergeben, zeigt die Literatur über die Rolle des Kaliumfluoreszeins als Indikator des Assimilatstromes oder wenigstens seiner Wanderbahnen. Während SCHUMACHER aus dem Speicherungsverhalten des Plasmas gegenüber dem Farbstoff auf eine Wanderung im Plasma schließt, glaubt RHODES (1937) Anhaltspunkte dafür zu haben, daß der Farbstoff primär im Xylem wandert, sekundär in das Phloem übertritt und dort gespeichert wird; ROUSCHAL (1941) dagegen glaubt, den Farbstoff auch in der Vakuole der Siebröhren von Cucurbita zu sehen und schließt auf eine primäre Vakuolenwanderung im Sinne einer Massenströmungstheorie und auf sekundäre Speicherung im Plasma. Diese Deutung findet sich auch bei BOTH (1937, S. 65) und CRAFTS (1938, S. 804); schließlich sei auf die Befunde STRUGGERS (1938a) hingewiesen, daß das Kaliumfluoreszein in den Membranen der Mittelrippe des Helodeablattes einer sehr raschen Wanderung fähig ist. Auch von dieser Wanderbahn aus ist natürlich eine sekundäre Speicherung im Plasma zu erwarten.

Für den Assimilatstrom wird augenblicklich vor allem die Vakuole (Massenströmungstheorie) und das Plasma (SCHUMACHER, MASON und sein Arbeitskreis) als Wanderbahn verfochten, während CRAFTS (1938, S. 805) jetzt seine ursprüngliche Auffassung über eine Assimilatausbreitung in den stark quellbaren Zellwänden dahin einschränkt, daß er diesen Transportweg nur noch für Sonderfälle gelten läßt.

Sowohl von Anhängern der Massenströmungstheorie (ROUSCHAL 1941) als auch von SCHUMACHER als einem Vertreter der Plasma-

wanderung wird das Kaliumfluoreszein als Indikator für die Wanderbahn der Assimilate oder für den Vorgang des Assimilattransportes selbst angesehen und als solcher benutzt. Bevor aber nicht klare Vorstellungen über den Wanderweg des Kaliumfluoreszeins und ähnlich wandernder Stoffe in den Siebröhren bestehen, solange ist es unmöglich, den Farbstoff als Indikator in der Assimilatstromforschung in Anspruch zu nehmen — gleichgültig, von welcher Theorie aus. Auch die ähnliche Beeinflußbarkeit des Kaliumfluoreszeintransportes und des Assimilatstromes ist von vornherein kein Beweis gegen eine andersartige Ausbreitung des Farbstoffes. Diese Arbeit ist daher der Klärung dieses Fragenkomplexes gewidmet. Berücksichtigt wurden besonders die Speicherungsbedingungen des Kaliumfluoreszeins in Anlehnung an die Ergebnisse von DÖRING (1935) und STRUGGER (1938a). Ferner wurde ein Vergleich mit dem Wanderungsverhalten des basischen Farbstoffes Berberinsulfat durchgeführt. Schließlich wurde die Ausbreitung beider Farbstoffe unter dem Mikroskop direkt verfolgt.

Das Studium der Membranwanderung wurde unmittelbar an das „Mittelrippenphänomen" bei *Helodea* angeschlossen, ergänzt durch Versuche an *Helodea*sprossen Als Hauptobjekte dienten aber *Bryonia dioica*, die mit ihren weiten Siebröhren ein eventuelles Auftreten des Farbstoffes in der Vakuole am ehesten erkennen zu lassen versprach, und *Pelargonium zonale*, das einen unmittelbaren Vergleich mit den Befunden SCHUMACHERs gestatten sollte.

Bei der angewandten Methodik wurde bewußt darauf verzichtet, der Pflanze den Farbstoff in Annäherung an natürliche Verhältnisse zu bieten. Es kam im Gegenteil darauf an, eine definierte Lösung möglichst unverändert in die Siebröhren zu bringen und die Ausbreitung in ihnen zu verfolgen. Die Mechanik der Aufnahme der Stoffe in die Siebröhren steht daher nicht zur Diskussion, sondern nur die Mechanik der Fortbewegung in ihnen.

Sämtliche Beobachtungen wurden mit der REICHERTschen Fluoreszenzeinrichtung „Lux UW" durchgeführt.

Herr Prof. Dr. SUESSENGUTH stellte mir für die Untersuchung einen Arbeitsplatz und sämtliche Hilfsmittel des Institutes zur Verfügung. Ich bin ihm zu großem Dank verpflichtet.

B. Farbstoffwanderung im Membransystem.

DÖRING (1935) und STRUGGER (1938 a) weisen beide auf die große Rolle der C_H für die Speicherung des Kaliumfluoreszeins hin. STRUGGER fand, daß bis etwa p_H 5 der Farbstoff bei *Allium cepa* im Plasma sehr rasch gespeichert wurde, während im schwach sauren und schwach alkalischen Bereich nur eine langsame Speicherung im Plasma zu

beobachten war. Überraschend für einen sauren Farbstoff war aber, daß bei Kurzfärbungen auch in der negativ geladenen Membran eine Färbung auftrat, die als Imbibitionsfärbung erkannt wurde und die Möglichkeit bot, auch Farbstoffwanderungen im Membransystem zu verfolgen. Besonders hohe Geschwindigkeiten wurden in der Mittelrippe des Blättchens von *Helodea densa* beschrieben.

STRUGGER betonte ausdrücklich in einer kritischen Würdigung der SCHUMACHERschen Befunde, daß prinzipiell auch mit einer primären Kaliumfluoreszeinwanderung in den Membranen der *Siebröhren* gerechnet werden könne. Zu dieser Schlußfolgerung berechtigt einmal die hohe Wanderungsgeschwindigkeit und die Tatsache, daß sie bei *Helodea* ebenfalls im Leitgewebe auftritt. Doch hält er es selbst für unwahrscheinlich, daß dann der Assimilatstrom experimentell erfaßt wäre, wenn in dem SCHUMACHERschen Grundversuch die Kaliumfluoreszeinwanderung in derselben Weise vor sich gehen sollte wie in der Mittelrippe von *Helodea*. Da bisher noch niemand dieser Frage nachgegangen ist, habe ich ihr eine spezielle Untersuchung gewidmet.

1. Das Mittelrippenphänomen bei Helodea densa.

Das Mittelrippenphänomen bei *Helodea* konnte in allen Einzelheiten reproduziert werden. Ergänzend sei mitgeteilt, daß nicht nur in dem subepidermalen Zellzug der Blattoberseite diese rasche Farbstoffausbreitung möglich ist, sondern daß man unter geeigneten Versuchsanstellungen das Phänomen in allen Zellen des reduzierten Leitbündels erzwingen kann.

Das Blättchen wurde nach dem Abtrocknen mit Filtrierpapier auf der Oberseite wieder angefeuchtet und mit der Oberseite nach unten auf einem dünnen Paraffinfilm ausgebreitet. Auf die Mittelrippe der Blattunterseite wurde ein Klümpchen Farbstoffgelatine aufgesetzt und ein Deckgläschen lose darübergelegt. Eine seitliche Paraffinzugabe konnte unterbleiben, da auch unter diesen Bedingungen der Blattunterseite durch Verdunstung soviel Wasser entzogen wurde, daß die Gesamtwasserbewegung im Blättchen sich nach der oben liegenden Blattunterseite verlagerte. Das Fluoreszenzbild war deutlich genug, um die feinen Farbstofflinien in den Membranen des Leitbündels durch die Epidermis der Blattunterseite gut zu erkennen. Der Versuch wurde mit dem gleichen Erfolg auch mit Berberinsulfat durchgeführt. Da dieser Farbstoff in den Membranen elektroadsorptiv gespeichert wird, ließ sich auch in der Querschnittkontrolle die Farbstoffwanderung in den unteren Teilen des reduzierten Leitbündels direkt bestätigen. Dadurch wird die Frage hinfällig, ob es Xylem- oder Phloemelemente sind, die dieser raschen Leitung fähig sind.

STRUGGER führte die Untersuchung ganz in Paraffinöl durch und brachte die Entstehung des Mittelrippenphänomens mit der Wirkung des Paraffinöls auf die Zellen in Zusammenhang. Nach YAMAHA (zit. nach STRUGGER 1938a) entzieht nämlich Paraffinöl dem Gewebe unter Umständen nicht unbeträchtliche Wassermengen. Diese Beobachtung YAMAHAs ist nun aber theoretisch nicht leicht deutbar. Die außerordentlich geringe Wasserlöslichkeit der Paraffinkohlenwasserstoffe ist ja bekannt; umgekehrt ist wegen des Mangels an hydrophilen Gruppen in einem Paraffinmolekül auch nicht damit zu rechnen, daß das Paraffinöl seinerseits wahrnehmbare Wassermengen durch einen Lösungs- oder Quellungsvorgang an sich zieht. So ist es recht schwer zu verstehen, wie Paraffinöl gar Schrumpfungen und Plasmolyse verursacht haben soll[1].

Weiter blieb in STRUGGERs Versuchen die Hemmbarkeit der Membranwanderung durch Abtöten, örtliche Plasmolyse, besonders aber durch Narkose ungeklärt. Er nannte diese Farbstoffausbreitung in den Membranen wegen ihrer Abhängigkeit vom Lebenszustand der Zellen eine „vitale Imbibitionsfärbung" der Zellmembran. Als vorläufige Deutung lag für ihn die Annahme nahe, daß der intramembranöse Plasmaanteil als oberflächenaktives Element beteiligt sei. SCHUMACHER (1939) hält dem entgegen, daß dann aber gar keine Entscheidung getroffen werden kann, wo eigentlich der Farbstoff wandert — im Plasma oder in der Membran.

Bei dem Wasserentzug durch das Paraffinöl braucht man nun durchaus nicht an eine direkte Saugwirkung zu denken, sondern man könnte annehmen, daß die völlige Hemmung des Gasaustausches, die ein Gewebe in Paraffinöl erleidet, in den Zellen selbst physiologische Bedingungen schafft, die einen Wasseraustritt hervorrufen. In erster Linie wäre eine Ansäuerung unter den anaeroben Bedingungen in Betracht zu ziehen. Es ist ja bekannt, daß es durch Aziditätsverschiebungen zu Permeabilitätsänderungen kommen kann. In ihrem Gefolge könnten Wasserverschiebungen im Gewebe auftreten. Doch für die extremen Fälle von Deformationen und Plasmolyse reicht auch diese Erklärung nicht aus. Aber negative Osmose wäre in geeigneten Geweben durch Ansäuerung des Zellinnern bei Atmungshemmung schon vorzustellen. Für welchen Mechanismus man sich bei dem Mittelrippenphänomen auch entscheiden mag, kapillare Mikroströmchen in den Membranen der Mittelrippe wären dann vielleicht so zu erklären, daß das Blatt basal oder apikal gelegene bevorzugte Wasseraustrittsstellen hat.

[1] Wie YAHAMA dieses Phänomen erklärt, ist mir nicht bekannt, da mir leider die Originalarbeit nicht zugänglich war.

Wenn es richtig ist, daß die Wirkung des Paraffinöls — wie oben angedeutet — durch Hervorrufung anaerober Bedingungen über bestimmte physiologische Vorgänge in den Zellen geht, dann müßte es auch möglich sein, solche kapillaren Mikroströmchen und damit das Mittelrippenphänomen durch andersartige Atmungshemmung hervorzurufen. Versuche wurden mit ausgekochtem Wasser und mit KCN 1:1000 durchgeführt; die Kontrollen lagen in frischem Leitungswasser.

Es war notwendig, die Methodik etwas zu modifizieren. Der Farbstoff wurde wie oben in einem Gelatineklümpchen in der Mitte der Blattoberseite geboten. Ein Auslaufen und Vermischen des Farbstoffes mit dem wässerigen Medium des übrigen Blattes wurde durch Vaseline verhindert. Rechts und links vom Farbstoffklümpchen wurde je ein Deckglas auf die untere und die obere Blatthälfte gelegt und unter die Deckgläschen seitlich mit einer Pipette a) ausgekochtes Wasser, b) eine 0,1%ige Lösung von KCN oder c) als Kontrolle Leitungswasser gegeben.

Tatsächlich ließ sich in dieser Anordnung, in der sich das ganze Blättchen außer einer schmalen Vaselinebrücke in Wasser befand, das Mittelrippenphänomen hervorrufen. Es trat allerdings nicht so rasch auf wie unter Paraffinöl. In ausgekochtem Wasser und in KCN war nach einer Viertelstunde meist ein Beginn der Farbstoffwanderung in der Mittelrippe zu beobachten, während die Kontrollen in reinem Leitungswasser keine Ausbreitung zeigten, die das Ausmaß der Diffusion überschritt. Die Wanderungsgeschwindigkeiten waren sehr unterschiedlich; häufig war der Farbstoff 15 Min. nach Wanderungsbeginn 5—8 mm weit vorgedrungen, mehrfach, so besonders bei Verwendung von KCN (wohl infolge von Giftwirkung), blieb die Wanderung auch ganz aus. Es steht mit diesen Beobachtungen durchaus nicht in Widerspruch, daß auch die Kontrollen nach 1—2 Stunden ebenfalls das Mittelrippenphänomen zeigten. — Bei Atmungshemmung an beiden Blatthälften war die bevorzugte Wanderungsrichtung nach der Basis zu. Wurde nur die obere Blatthälfte gehemmt, so wanderte der Farbstoff spitzenwärts. Die Lokalisation der Farbstoffausbreitung in den *Membranen* konnte auch hier sichergestellt werden.

Eine eingehendere Analyse des Mittelrippenphänomens mußte im Rahmen dieser Arbeit unterbleiben; die Frage wird vielleicht in einem anderen Zusammenhang wieder aufgegriffen. Die Ergebnisse der Versuchsreihen zwingen uns aber nicht mehr unbedingt, dem Paraffinöl eine direkte wasserentziehende Wirkung zuzuschreiben. Die vitale Komponente der Membranwanderung brauchen wir auch nicht mehr in den oberflächenaktiven Plasmagrenzschichten, also in der Struktur der Wanderbahn, zu suchen, sondern sie hängt vielleicht über bestimmte Stoffwechselprozesse direkt mit der Hervorrufung kapillarer

Mikrosträmchen zusammen. Damit vereinfacht sich aber die Vorstellung vom Wesen dieser Farbstoffausbreitung in den Membranen. Nicht der Farbstoff wandert selbständig, sondern er ist lediglich ein Indikator feinster Wasserverschiebungen im Mikrokapillarsystem der Membranen, ähnlich wie sie der Transpirationssog in den Blättern von Landpflanzen hervorzubringen vermag (STRUGGER 1938 b). Der Verdacht, daß die Membranwanderung nur ein Spezialfall von Plasmawanderung sein könnte, ist damit nicht mehr begründet.

2. Membranwanderung im Leitbündelstrang des Helodeasprosses.

Den nächsten Schritt bildeten mehrere Untersuchungsreihen am Leitbündelstrang des *Helodea*sprosses. Für diese Untersuchungen standen hauptsächlich Sprosse von *Helodea crispa* zur Verfügung; eine Paralleluntersuchungsreihe mit *Helodea densa* ließ aber keinen Unterschied zwischen beiden Arten erkennen. (Zur Anatomie des Leitbündelstranges von *Helodea* vgl. SCHENCK 1886.)

Sproßstücke von 2—4 mm Länge wurden entblättert und zum Schutz gegen Verdunstung mit Paraffinöl bestrichen; die Schnittflächen blieben ölfrei. Ein Ende wurde in eine mit Farbstoff (1:100) gefüllte Mikrovase (vgl. STRUGGER 1938 b) gestellt und die andere Schnittfläche der Transpiration bei 25° C ausgesetzt (relative Luftfeuchtigkeit 72%).

In etwa 10—20 Min. war der Farbstoff durch das Stengelstück gewandert. Längsschnittkontrollen wiesen den Farbstoff im Plasma, in der Farbstoffspitze auch in den Membranen nach. Eine mit Berberinsulfat durchgeführte Versuchsserie zeigte im Längsschnitt reine Membranfärbung. Querschnitte überzeugten mich davon, daß alle Leitbündelelemente an der Farbstoffwanderung beteiligt waren. Eine genaue Analyse zeigte, daß der Farbstoff zwar auch im Lumen der Gefäßgänge, die aus reduzierten Gefäßen hervorgegangen sind, nach oben gewandert war, daß aber unter den besonderen Versuchsbedingungen die kapillare Wasserausbreitung im Membransystem des gesamten Leitbündelstranges weit vorausgeeilt war. Eine bevorzugte Bewegung in den Membranen der Siebröhren oder in denen der Parenchymzellen um die Gefäßgänge konnte trotz sorgfältigster Prüfung nicht festgestellt werden.

In einer weiteren Versuchsserie wurde der Wanderungsvorgang direkt beobachtet. Farbstoffe waren wieder Kaliumfluoreszein und Berberinsulfat in Konzentration 1:100, geboten in 5%iger Gelatine. Es wurden dünne Längsschnitte des Stengels hergestellt. In den Schnitten, die den Leitbündelstrang enthielten, kontrollierte ich stets vor Versuchsbeginn an der Plasmaströmung, daß die nicht unmittelbar

durch den Schnitt verletzten Zellen intakt waren. Die Schnitte wurden wie die *Helodea*blättchen oberflächlich abgetrocknet und auf einen dünnen Paraffinölfilm ausgebreitet; auf den Leitbündelstrang wurde ein Klümpchen Farbstoffgelatine gesetzt und der Schnitt so mit einem Deckglas bedeckt, daß ein Ende frei transpirieren konnte, während unter das Deckglas seitlich Paraffinöl zugegeben wurde.

In zahlreichen Fällen wanderte der Farbstoff rasch im Leitbündelstrang durch das Gesichtsfeld, und zwar stets in den *Membranen*. Eine Bevorzugung der Wanderungsrichtung wurde nicht festgestellt. Es war gleichgültig, ob das basale oder das apikale Ende des Schnittes der Transpiration ausgesetzt wurde; stets wanderte der Farbstoff zur Verdunstungsstelle. Die Geschwindigkeit variierte sehr stark und war abhängig von der Größe des Wasserentzuges. Lokale Erwärmung der Verdunstungsstelle erhöhte augenblicklich die Wanderungsgeschwindigkeit. Als Höchstgeschwindigkeit wurde etwa 1 mm/sec gemessen. Diese Geschwindigkeiten traten aber nur im Experiment auf. Unter Wasser getauchte Sprosse, denen der Farbstoff durch eine mit Vaseline abgedichtete Wunde geboten wurde, ließen in meinen Versuchen keine bevorzugte Wanderung im Leitbündelstrang erkennen. Die Wanderungsgeschwindigkeiten entsprachen durchaus denen, die bei einfacher Diffusion zu erwarten sind. Um so bemerkenswerter sind aber die im Experiment festgestellte große *Wegsamkeit* der Leitbündelmembranen und die erzielten Geschwindigkeiten.

3. Farbstoffwanderung in den Membranen des Phloems von Bryonia.

Nach diesen Erfahrungen waren die Verhältnisse bei Pflanzen zu prüfen, deren Leitbündel eine wohlausgebildete Differenzierung in Xylem und Phloem aufweist. Bei *Helodea* mit ihrem reduzierten Holzteil konnte ja ein Sonderfall vorliegen. — Zunächst wurde eine orientierende Versuchsserie mit einer weiteren Wasserpflanze, der Wasserform von *Ranunculus aquatilis*, die weiteren Untersuchungen aber an den Blattstielen von *Bryonia dioica* durchgeführt. Da die Ergebnisse bei beiden Objekten im wesentlichen gleich waren, seien die Verhältnisse bei *Bryonia* beschrieben.

Von *Bryonia*blattstielen wurden Längsschnitte von 2—3 cm Länge hergestellt, die vom Leitbündel möglichst nur Phloemelemente enthielten. Die Schnitte mußten parallel zum Zellverlauf geführt werden, damit über den ganzen Schnitt zusammenhängende Zellzüge liefen. Im übrigen entsprach die Methodik der bei *Helodea* angewandten. Der Farbstoff — Kaliumfluoreszein wie Berberinsulfat — drang unmittelbar nach der Farbstoffauflegung rasch 3—4 Zellen weit in den Membranen vor. Dann blieb die Farbstoffausbreitung zunächst stehen, und

der Farbstoff wurde in steigendem Maße vom Plasma aufgenommen, wobei — ähnlich wie bei den Versuchen STRUGGERS (1938a) — bei Kaliumfluoreszein meist eine völlige Entfärbung der Membran eintrat. An diesem ersten Stadium der Farbstoffwanderung waren alle Phloemelemente gleichmäßig beteiligt. Nach spätestens 5—10 Min. schoß aber der Farbstoff in zahlreichen Präparaten mit großer, oft gar nicht meßbarer Geschwindigkeit (vgl. STRUGGER 1938a) in einigen Zellzügen lediglich in den Membranen durch das Gesichtsfeld. In der überwiegend größten Zahl der Fälle waren es die parenchymatischen Anteile des Phloems, in denen die Wanderung vor sich ging; dann aber auch recht häufig die jungen, noch nicht funktionstüchtigen Siebröhren an der Kambiumgrenze des äußeren Phloems; seltener beobachtete ich Farbstoffwanderung in den Membranen der reifen Siebröhren. In diesen Fällen wanderte der Farbstoff meist erst in die Siebplatten, wenn der Farbstoff in der Längswand schon die nächste oder übernächste Zelle erreicht hatte. *Außer den Geleitzellen waren aber alle Zellelemente des Phloems dieser Farbstoffernleitung in den Membranen fähig*, und es ist durchaus möglich, daß die gefundene unterschiedliche Häufigkeit keine statistische Bedeutung hat.

Damit war die Wegsamkeit des Membransystems des Phloems, speziell auch der Siebröhren, für einen raschen Massentransport des Imbibitionswassers und darin gelöster Stoffe erwiesen, nicht bewiesen war aber zunächst, ob damit die Siebröhrenwanderung des Kaliumfluoreszeins in den Versuchen SCHUMACHERS und anderer Autoren erfaßt war. Denn es war zweifelhaft, ob die angesetzten Saugkräfte den natürlichen Verhältnissen in der Pflanze entsprachen. Diese Wanderungsbilder mußten also kritisch verglichen werden mit der Farbstoffwanderung in den Siebröhren unter Bedingungen, in denen künstliche Saugkräfte vermieden waren.

C. Farbstoffwanderung in den Siebröhren.

I. Bryonia dioica.

1. Versuche mit Kaliumfluoreszein.

Vergleichsweise wurde in Voruntersuchungen der Farbstoff den Blättern an der intakten Pflanze und im abgeschnittenen Zustand geboten. Da kein Unterschied im Fluoreszenzbild und in der durchschnittlichen Wanderungsgeschwindigkeit festzustellen war, verwendete ich des einfachen Arbeitens wegen in allen weiteren Versuchen nur noch abgeschnittene Blätter. Mit der Rasierklinge wurden dicht unter der Spreite die obersten Zellschichten entfernt, die Wunde mit Filtrierpapier abgetrocknet und auf die Wunde ein großer Farbstofftropfen gesetzt. Farbstoffgelatine wurde nicht verwendet, da es darauf

ankam, möglichst viel der Farbstofflösung unmittelbar an die Siebröhren heranzubringen. Deshalb wurde auch die Wunde erst einige Minuten trocken gehalten, damit die Farblösung vom Gewebe regelrecht eingesaugt wurde. Die mikroskopische Untersuchung wurde nach etwa einer Stunde 2—3 cm unterhalb der Wunde an Längsschnitten durchgeführt.

Bei einer Plasmawanderung im SCHUMACHERschen Sinn wäre zu erwarten, daß eine Farbstoffüberschwemmung mit großen Konzentrationen sich im Färbebild nur auf die nächste Umgebung der Wunde auswirken würde. Im übrigen würde mit steigender Konzentration bei einer „molekularen Schiebung" nur Geschwindigkeit und maximaler Transportweg ansteigen. Der Farbstoff müßte aber trotzdem immer im Plasma auftreten, da seine Anwesenheit und seine Konzentration in den vermuteten Wanderbahnen des Plasmas in einiger Entfernung von der gefärbten Wunde ausschließlich von der Kapazität der Wanderbahn und von der Speicherungskapazität des Plasmas begrenzt wäre. Bei einer Massenströmung in der Vakuole müßte aber das statische Färbungsbild mit steigender Farbstoffgabe sich grundlegend ändern. Bei Konzentrationen unterhalb der Speicherungskapazität des Plasmas müßte sich das Fluoreszenzbild mit dem von SCHUMACHER beschriebenen decken. Mit steigender Konzentration müßte aber immer mehr *nicht speicherbarer* Farbstoff in der eigentlichen Wanderbahn, also der Vakuole, zu finden sein. Auch bei einer primären Membranwanderung müßte jetzt der Farbstoff in den Membranen auftreten. Die im folgenden beschriebenen Versuche mit Farbstoffkonzentrationsreihen versprachen also schon eine recht gute Entscheidung, ob die Annahme einer Plasmawanderung befriedigen kann oder ob der Farbstoff primär einen anderen Weg nimmt.

a) Konzentration 1:10000 in destilliertem Wasser. Deutlich war das Plasma angefärbt, Stärkekörner leuchteten auf. Die Vakuole war relativ dunkel; ob sie gänzlich ohne Farbstoff war, konnte nicht entschieden werden. Die Wanderstrecke betrug auch nach Stunden höchstens einige Zentimeter.

b) Konzentration 1:1000 in destilliertem Wasser. Auch hier war durch die leuchtenden Stärkekörner die Anwesenheit des Farbstoffes im Plasma erwiesen, wenn auch die diffuse Farbstoffverteilung die Entscheidung schwer machte, ob er im Plasma im adsorbierten Zustand vorlag. Die Fluoreszenz war bedeutend kräftiger, und vielfach bot der Farbstoff das Bild eines gleichmäßig leuchtenden Bandes, das die ganze Breite der Zelle ausfüllte; vor den Siebplatten war einseitig eine diffuse Farbstoffkonzentration feststellbar; die Siebplatten selbst leuchteten auf, wobei nicht zu entscheiden war, ob das Leuchten von der ganzen Siebplatte oder nur von den Siebporen ausging. Die Längsmembranen

waren völlig dunkel. Dieses Bild war nur unter der Annahme, daß auch der Zellsaftraum farbstofferfüllt war, verständlich. Ähnliche Bilder mag ROUSCHAL (1941) gesehen haben, als er sich für eine Fluoreszenz der Vakuolen bei *Cucurbita* entschied. Wenn man unter Paraffinöl Querschnitte herstellte, so daß der Farbstoff nicht auslaufen konnte, erschien der Farbstoff im ganzen Lumen gleichmäßig verteilt. Immerhin könnte am Zustandekommen dieses Querschnittbildes ein sekundärer Farbaustritt aus dem Plasma infolge Verletzung beteiligt sein.

c) Konzentration 1:100 in destilliertem Wasser. Nach den Erfahrungen DÖRINGS (1935) mit Natriumfluoreszein war auch in dieser Konzentration noch mit keiner wesentlichen Giftwirkung zu rechnen, zumal ja der Farbstoff beim Eintritt in die Siebröhren noch eine Verdünnung erfährt. — Wie bisher waren die Längswände völlig dunkel, dagegen erschienen die Siebröhren ausnahmslos als intensiv leuchtende „Bänder". Die Fluoreszenz hatte gegenüber der vorherigen Konzentration wieder erheblich zugenommen. Bei Betrachtung dieser Bilder konnte es aber keinem Zweifel mehr unterliegen, daß sich der Hauptteil des Farbstoffes in der Vakuole befand. Vor den Siebplatten war die diffuse Fluoreszenz gleichmäßig über die ganze Zellbreite hin fast regelmäßig verstärkt (Farbstoffstauung?). Niemals leuchtete der wandständige Plasmabelag kräftiger als der Zellsaftraum, der auch im Querschnitt intensiv fluoreszierte.

Über die noch immer wenig geklärte Erscheinung der Fluoreszenzlöschung mögen an dieser Stelle einige Bemerkungen eingeflochten sein. Wie ROUSCHAL (S. 164) beobachtete auch ich bei längerer Betrachtung eine zunehmende Löschung der Fluoreszenz (offenbar unter der Einwirkung der kurzwelligen Strahlen). Sowohl die vorwiegend plasmagefärbten Siebröhren als auch diejenigen mit deutlicher Vakuolenfluoreszenz zeigten diese Erscheinung. ROUSCHAL wertete diese Tatsache in dem Sinne, daß beiderlei Siebröhren den gleichen Plasmazustand gehabt hätten, d. h. auch die Siebröhren mit dem Farbstoff in der Vakuole intakt gewesen seien. In den vorliegenden Versuchen wurde nun die Fluoreszenzlöschung mit steigender Farbstoffkonzentration geringer, so daß die Frage auftauchte, ob diese Beobachtung im Sinne einer zunehmenden Plasmaschädigung zu deuten sei. Gelinder Druck auf das Präparat ließ nun nicht etwa die Vakuole durch Farbstoffabgabe des Plasmas stärker aufleuchten, sondern umgekehrt fluoreszierte jetzt das Plasma auf Kosten der Vakuole erheblich kräftiger. Gleichzeitig war die Fluoreszenzlöschung im Plasma beschleunigt.

Auch der Plasmolysereiz (geprüft mit Glyzerin und KCNS) förderte die Speicherungsfähigkeit des Plasmas für den Farbstoff, zugleich aber auch die Fluoreszenzlöschung, so daß nach kurzem Fluoreszenzumschlag rasch das ganze Bild ausblaßte. Bei anfänglich hoher Farb-

stoffkonzentration in den Siebröhren sah man aber — besonders schön nach Abrundung in KCNS — daß die Vakuole nach leichter Abblassung kräftig und konstant weiterleuchtete, während der umgebende Plasmamantel schließlich seine Fluoreszenz ganz verlor. Es erlitt also nur der *im Plasma adsorbierte* Farbstoffanteil die Fluoreszenzlöschung, dagegen behielt das *in der Vakuole gelöste* Kaliumfluoreszein — ähnlich wie im Reagensglas — seine konstante Leuchtkraft. Die geringere Gesamteinbuße der Fluoreszenz in den stark vakuolengefärbten Siebröhren erklärt sich also aus dem großen nichtadsorbierten Farbstoffüberschuß im Zellsaftraum.

Mindestens steht aber fest, daß eine intravitale Schädigung, wie sie gelinder Druck und Plasmolyseeingriff zweifellos darstellen, keine Farbstoffabgabe in die Vakuole im Gefolge hatte. Ebenso deutet die Tatsache der Plasmolysierbarkeit auch der Siebröhren mit intensivster Vakuolenfluoreszenz und der gleichartige Ablauf der Fluoreszenzlöschung im *Plasma* darauf hin, daß der Plasmazustand der plasma- und der vakuolengefärbten Siebröhren im wesentlichen der gleiche war. Daraus kann auch abgeleitet werden, daß die Fluoreszenzbilder mit Vakuolenfärbung nicht als pathologische Farbstoffabgabe aus dem Plasma in die Vakuole zu verstehen sind.

Döring (S. 426) konnte durch Baden der Präparate in schwach sauerer Lösung (1 Tropfen n/10 Essigsäure auf 100 cm^3 destilliertes Wasser) eine Umstimmung des Speicherungsverhaltens des Plasmas für Natriumfluoreszein erreichen. Plasma, das vorher seinen Farbstoff an die Vakuole abgegeben hatte, speicherte nach der Behandlung wieder lebhaft. Dieser Versuch ließ sich auch erfolgreich an vakuolengefärbten Siebröhren durchführen. Nach wenigen Minuten trat ein deutlicher Unterschied in der Fluoreszenzintensität zwischen Plasma und Vakuole zu Gunsten des Plasmas auf, und kurze Zeit danach blaßte das Bild durch Fluoreszenzlöschung aus. Wenn in Dörings Versuchen — im Gegensatz zu den Verhältnissen in den Siebröhren — niemals wieder der Farbstoff aus der Vakuole zurück ins Plasma trat, dann ist dieser Unterschied sicher auch in der verschiedenen Tonoplastenbeschaffenheit begründet.

d) Konzentration 1:10000 in Phosphatpuffer p_H 9. Wenn es möglich war, durch Umpufferung die Speicherungsfähigkeit des Plasmas zu erhöhen, so war zu erwarten, daß auch der umgekehrte Versuch gelingen würde. Er wurde in der Weise mit dem Farbstoffwanderungsversuch kombiniert, daß Farbstoff und Puffer gemeinsam geboten wurden. Die Einführung des Puffers in die Siebröhren war nicht einfach und gelang nicht oft. Sie wurde aber doch dadurch erreicht, daß mit einer scharfen Rasierklinge das Phloem ganz nahe an die Schnittoberfläche gebracht wurde; die Wunde wurde mehrere Minuten trocken

gehalten, damit der Puffer in das Gewebe eingesaugt wurde. Er nahm seinen Weg über die Membranen, wie aus einem entsprechenden, weiter unten zu beschreibenden Versuch mit KCNS abgeleitet werden kann, und konnte so die Siebröhren im Imbibitionswasser der Zellwände direkt umspülen. Verwendet wurde ein $^1/_{15}$ molares Phosphat puffergemisch. Der mögliche Einwand, daß solche Konzentrationen unkontrollierbare Schädigungen im Gefolge haben könnten, kann die Versuchsergebnisse nicht entkräften. Zweifellos können in der unmittelbaren Umgebung der Wunde, auch in den Siebröhren, nach einiger Zeit gewisse Schädigungen auftreten, die sich zunächst in einer leichteren Aufnahme des Puffers äußern mögen. Aber die Puffer*menge*, die in den Membranen den Protoplasten umspülte, war ja sehr gering und der Puffernachschub sehr begrenzt, so daß mit steigender Aufnahme in die Zellen eine Verdünnung der Außenlösung eintreten mußte. Die aufgenommene Puffermenge blieb außerdem, solange die Siebröhren noch lebten, stets hinter der Außenkonzentration zurück und erfuhr sicher eine erhebliche Abschwächung ihrer Wirkung. Schließlich wurden ja nicht die Verhältnisse in der Umgebung der Schnittwunde untersucht, sondern die Präparate wurden 2 cm weiter unterhalb hergestellt. Schwächere Pufferkonzentrationen blieben ohne eindeutigen Effekt. Vorbehandlung von $^1/_2$ Stunde mit farblosem Puffer erwies sich als vorteilhaft. Während die Kontrollen regelmäßig ein gegenüber der Vakuole deutlich stärker gefärbtes Plasma aufwiesen, war der Farbstoff in den Pufferversuchen mehrfach als gleichmäßig diffuses, matt fluoreszierendes Band im ganzen Zellinhalt sichtbar. *Es war also der Puffer mit dem Farbstoff gewandert und hatte die elektroadsorptive Bindung im Plasma zurückgedrängt.* Durch nachträgliche Behandlung mit einem schwach saueren Bad war auch in diesen Fällen regelmäßig ein Umschlagen des Färbebildes im Sinne eines stärkeren Aufleuchtens des Plasmas auf Kosten der Vakuole, verbunden mit nachfolgender Fluoreszenzlöschung, zu erzielen.

2. Versuche mit anderen fluoreszierenden Farbstoffen.

Es wurden andere fluoreszierende Stoffe gefunden, die einer Siebröhrenwanderung fähig sind; meist waren sie aber dem Kaliumfluoreszein nicht ebenbürtig. Ob ein Farbstoff gut wanderte, hing erstens davon ab, ob er in die Siebröhren einzudringen vermochte, und zweitens ob er nicht zu stark vom Siebröhrenplasma weggespeichert wurde. Befand sich ein Farbstoff aber in nachweisbaren Mengen in den Siebröhren, so war auch bei starker Plasmaspeicherung stets eine gewisse Wanderung zu beobachten.

Primulin wanderte gut; in den Siebröhren war es aber in einiger Entfernung von der Wunde nur in der blau fluoreszierenden Phase

nachweisbar, ein Hinweis, daß die Teilchengröße für die Wanderungsfähigkeit eines Stoffes begrenzender Faktor sein kann. Über das Speicherungsverhalten konnte wegen der schwachen Fluoreszenz noch keine Aussage gemacht werden. Die Wanderungsrichtung war — wie übrigens bei allen geprüften Stoffen — die gleiche wie die des Kaliumfluoreszeins.

Rhodamin B und 6 G wurden weniger gut aufgenommen und wanderten nur kürzere Strecken. Ein matter diffuser Fluoreszenzschimmer erfüllte das ganze Zellumen.

Chininchlorid wanderte gut, und seine mattblaue Fluoreszenz erstreckte sich über die ganze Breite der Zellen.

Neutralrot und Acridinorange konnten bisher nicht zur Wanderung gebracht werden, dagegen wanderte *Berberinsulfat* sehr gut. Die Reihe der wanderungsfähigen Stoffe läßt sich wahrscheinlich noch beträchtlich vermehren, und es ist zu erwarten, daß durch Vitalfärbung der Siebröhren von innen her aus den bekannten Eigenschaften der Farbstoffe interessante strukturelle und elektrostatische Besonderheiten der einzelnen Plasmakomponenten der Siebröhren abgeleitet werden können. Solche Untersuchungen sind in Vorbereitung.

Für die vorliegende Fragestellung war es zunächst einmal wichtig, einen basischen Farbstoff, das Berberinsulfat, mit dem saueren Kaliumfluoreszein zu vergleichen. Die Berberinsulfatkonzentration betrug 1:100 in Leitungswasser. Der Farbstoff ist nach Strugger (1939 a) im saueren und neutralen Gebiet stark dissoziiert. Erst über p_H 11 liegt der Farbstoff in molekularer Form vor und ist dann elektroneutral. In dissoziierter Form ist er nicht in Olivenöl und Chloroform löslich, dagegen steigt, wohl auf Grund einer chemischen Reaktion, in Ölsäure und Terpentinöl die Löslichkeit vom saueren bis zum alkalischen Bereich. Im Gegensatz zum Kaliumfluoreszein, das nach Strugger die Plasmagrundsubstanz diffus färbt, färben sich mit Berberinsulfat in der oberen Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* elektiv größere und kleinere Mikrosomen und der Zellkern. Außerdem wird von p_H 3—11 auch die negativ geladene Membran elektroadsorptiv gefärbt.

In den Siebröhren färbte aber das wandernde Berberinsulfat nicht im geringsten die Membran. Weder die Nebenzellen noch die übrigen Phloemelemente wiesen den Farbstoff auf; er war streng an die Siebröhren gebunden. Gefärbt waren lediglich körnig-netzige Strukturen im Siebröhrenplasma. Das berechtigt natürlich noch nicht zu dem Schluß, daß auch die Wanderung im Plasma stattgefunden hatte, sondern das Fluoreszenzbild gibt lediglich die statischen Verhältnisse wieder und ist ein Ausdruck der Verteilung der Speicherungsaffinitäten

im Protoplasten. STRUGGER fand eine starke Speicherung des Farbstoffes im Plasma erst über p_H 11 und brachte für sein Objekt die elektive Färbung der Mikrosomen mit der Lösungsaffinität des Farbstoffes zu organischen Lösungsmitteln in Beziehung. Nun ist aber die Lipoidarmut der reifen Siebröhren bekannt, und ROUSCHAL konnte durch seine Neutralrotfärbungen an jungen und reifen Siebröhren dartun, daß der Lipoidgehalt mit dem Reifungsgrad abnimmt und reife Siebröhren praktisch lipoidfrei sind. Es fällt daher schwer, die gefundenen Speicherungsbilder bei den Siebröhren mit Lösungsaffinitäten in Zusammenhang zu bringen. Eine Deutung der Speicherung auf elektroadsorptiver Grundlage liegt in diesem Falle näher, zumal ja der Farbstoff noch bis p_H 11 zum Teil in Ionen zerfallen ist. — Überraschend war, daß jede Spur einer Membranfärbung fehlte. — Das Färbungsbild war sehr labil; bei mehrminutiger Beobachtung der Schnitte in Paraffinöl oder bei gelindem Druck leuchteten einzelne Stellen des primär gefärbten Plasmas heller auf, während andere Stellen wieder verblaßten; auch einzelne begrenzte Membranstrecken begannen jetzt schwach zu leuchten.

Für unser Problem ergaben sich aber aus den Versuchsreihen noch folgende wichtige Punkte: 1. Die Wanderungsgeschwindigkeit lag in derselben Größenordnung wie die des Kaliumfluoreszeins. 2. Die Wanderungsrichtung war die gleiche wie die des Kaliumfluoreszeins 3. Die Temperaturabhängigkeit der Wanderungsgeschwindigkeit lie. der des Kaliumfluoreszeins parallel.

3. Gleichzeitige Wanderung von Kaliumfluoreszein und Berberinsulfat.

Die Farbstoffe mußten an 2 getrennten Schnittstellen geboten werden, da die konzentrierten Lösungen einen schwerlöslichen Niederschlag bilden. In mehreren Fällen konnten beide Farbstoffe 2 cm unterhalb der untersten Schnittstelle in der gleichen Siebröhre nachgewiesen werden. Eine Unterscheidung gelang trotz der ähnlichen Fluoreszenzfarbe zuverlässig, da sich das an körnig-netzige Strukturen gebundene Berberinsulfat deutlich gegen das diffus verteilte Kaliumfluoreszein abhob.

Für die theoretische Beurteilung dieses Ergebnisses ist es vor allem wichtig, daß ein *basischer* Farbstoff gefunden wurde, der das gleiche Wanderungsverhalten und den gleichen Wanderungsweg aufweist wie das *sauere* Kaliumfluoreszein. Polare Wanderungserscheinungen sind edmnach nicht mit dem elektrischen Verhalten der Farbstoffionen in Zusammenhang zu bringen.

4. Wanderung von Kaliumrhodanid.

Eine $^1/_{10}$ molare KCNS-Lösung wurde in der üblichen Weise an Stelle des Farbstoffes geboten. Da das Salz in den Siebröhren nicht unmittel-

bar nachgewiesen werden konnte, wurde es durch Ausfällung mit Berberinsulfat 1:1000 nachträglich sichtbar gemacht. STRUGGER (1939, S. 284) beschreibt diese Reaktion erstmalig als sehr empfindlichen histochemischen Nachweis der Salzintrabilität. — Zwei cm unterhalb der ersten Wunde, durch die das KCNS eindrang, wurde nach einer Versuchszeit von 1 Stunde in einer zweiten Wunde das Berberinsulfat geboten. Nach weiteren 15 Min. wurden wie üblich die Siebröhren im Längsschnitt untersucht. In mehreren Versuchen zeigten die Siebröhren charakteristische Bilder: statt der bekannten zarten Plasmafluoreszenz des Berberinsulfates waren die Siebröhren massiv ausgefüllt mit kleinen intensiv fluoreszierenden Berberinrhodanidkristallen. Wie oben die Phosphate war also als weiteres anorganisches Salz das KCNS in den Siebröhren gewandert. Spreitungsähnliche Ausbreitung ist aber für anorganische Salze nicht wahrscheinlich. Daß die Versuche nicht zuverlässig reproduzierbar waren, lag daran, daß das KCNS oft nicht von der Wundoberfläche genügend tief in das Gewebe vorgedrungen war. Wie weit es jeweils gekommen war, konnte durch nachträgliche Behandlung mit Berberinsulfat leicht gezeigt werden: sein Weg war durch zahlreiche leuchtende Berberin rhodanidnadeln markiert. Da nur aus den Membranen die fluoreszierenden Kristalle ausblühten, mußte das KCNS über den Membran weg eingedrungen sein. Das gilt unter den gegebenen Versuchsbedingungen zweifellos auch für die anderen verwendeten Stoffe.

5. Farbstoffwanderung in spreitenlosen Blattstielen.

Wie BOTH (1937) fand, wandert das Kaliumfluoreszein in spreitenlosen Stengelstücken von *Impatiens* unpolar nach beiden Seiten. Blattstiele von *Bryonia*, denen man die Spreite entfernt hatte, verhielten sich ganz entsprechend. Kaliumfluoreszein unterschied sich auch hierin nicht von Berberinsulfat.

6. Farbstoffwanderung im Gesichtsfeld des Mikroskopes.

Um allen Einwendungen gegen die angewandte Methodik oder gegen die Ausdeutung der gefundenen Färbungsbilder zu begegnen, habe ich den Wanderungsvorgang im mikroskopischen Bild direkt verfolgt. Die methodischen Schwierigkeiten waren groß, konnten aber schließlich überwunden werden.

Mittels scharfer Messerchen, aus ungebrauchten Rasierklingen hergestellt, wurde der Blattstiel an der Beobachtungsstelle zu einer dünnen Schicht verjüngt, in der ein Leitbündel verlief. Wegen der erforderlichen Bildschärfe durfte die Schicht nicht dicker sein als der Phloemdurchmesser; an wesentlich dünneren Schnitten habe ich aber, vielleicht wegen Schädigung, keine Wanderung beobachtet, so

daß die angegebene Dicke etwa das Optimum für die Beobachtung darstellen dürfte. Wanderte der Farbstoff in einer Siebröhre nahe der oberen Schnittfläche, so unterschied sich das mikroskopische Fluoreszenzbild in seiner Deutlichkeit keinesfalls von den dünnsten Längsschnitten an vorgefärbten Präparaten. $1^1/_2$ cm oberhalb des verdünnten Stengelteiles wurde wie bisher der Farbstoff aufgetragen und unterhalb der Farbstoffwunde ein dicker Vaselinering angebracht, der das Verlaufen des Farbstoffes verhinderte. Die Beobachtungsstelle mußte immer gut feucht gehalten werden. Das so präparierte Blatt wurde rasch auf einer Glasplatte 9×12 cm befestigt und die Beobachtungsstelle mit einem dünnen Objektträger abgedeckt; seitlich wurde Leitungswasser daruntergegeben, das nochmals durch einen Vaselinedamm vor Vermischung mit dem Farbstoff geschützt war. Die Beobachtungsstelle wurde bis zur Hauptbeobachtungszeit nur kurz zur Kontrolle dem Ultraviolettlicht ausgesetzt. Es wurden so viel Präparate hergestellt, bis je 5 einwandfrei beurteilbare Wanderungsbilder mit Kaliumfluoreszein und mit Berberinsulfat erzielt wurden. Da alle Versuche gleichsinnig verliefen, wurde wegen der großen präparativen Schwierigkeiten auf weitere Versuche verzichtet. Beobachtet wurde bei 200facher Vergrößerung. Die Farbstoffkonzentration betrug jeweils 1:1000.

a) Kaliumfluoreszein. Nach etwa $^1/_2$ Stunde erschien die Farbstoffspitze als diffuser Schleier im Gesichtsfeld, der etwa die ganze Breite der Zelle ausfüllte. Niemals war die Fluoreszenz nach den Längswänden zu stärker gegenüber dem Zellinnern, im Gegenteil verschwamm die Fluoreszenz etwas nach den Seiten zu. Erst nach mehreren Minuten, wenn die Farbstoffspitze schon durch das Gesichtsfeld gewandert war, leuchteten im wandständigen Plasma einige Stärkekörnchen auf. Ersetzte man das Leitungswasser unter dauernder Weiterbeobachtung durch ein schwach saueres Bad (s. oben), dann änderte sich das Färbungsbild in wenigen Minuten grundlegend. Deutlich erschienen die Vakuolen dunkler gegenüber dem seitlichen Plasma; die Stärkekörnchen leuchteten hell auf. Innerhalb der nächsten Minute trat rasch fortschreitende Fluoreszenzlöschung ein.

b) Berberinsulfat. Genau wie bei Kaliumfluoreszein bewegte sich die Farbstoffspitze mit matter diffuser Fluoreszenz in den Siebröhren vorwärts. Es schien wieder die ganze Zellbreite ausgefüllt zu sein; wegen der geringen Dicke des wandständigen Plasmabelages konnte nicht eindeutig ausgemacht werden, ob die Fluoreszenz auch das Plasma einschloß. Erst wenn der Farbstoff die nächste oder gar übernächste Siebröhrenzelle erreicht hatte, begann die erste wahrnehmbare Speicherung im Plasma, die nun rasch zunahm. Der Farbstoff wurde in zarten, netzig-granulären Strukturen gebunden. Durch die leuch-

tenden Plasmastrukturen war aber, solange der Farbstoff nachströmte, noch ein diffuser Fluoreszenzschimmer bemerkbar, der nicht aus dem darunterliegenden Gewebe stammen konnte, da anfänglich nur eine Siebröhre gefärbt war. Unterbrach ich durch einen Schnitt den Farbstoffnachschub, so verschwand nach kurzer Zeit auch das diffuse Leuchten, und das Färbungsbild war das gleiche, wie es bereits oben (S. 233) beschrieben wurde. Membranfärbung wurde in diesen Versuchen nie beobachtet.

Die wichtigsten Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind, daß 1. an der Farbstoffspitze, auch bei Berberinsulfat, die erste wahrnehmbare Fluoreszenz völlig diffus war; 2. die Fluoreszenz die ganze Breite der Zellen ausfüllte, wobei bei dem kräftiger fluoreszierenden Kaliumfluoreszein in der ersten Minute die seitlichen Ränder dieses Farbstoffstranges blasser waren und nach außen verschwammen (POISEUILLEsches Paraboloid?), 3. eine wahrnehmbare Speicherung in allen Fällen erst *nach* diesem eben beschriebenen Bild auftrat.

Wenn auch wegen der geringen Dicke des Protoplasmabelages bei der angewandten Vergrößerung eine eventuelle Mitbeteiligung des Plasmas an der primären, diffusen Fluoreszenzfärbung nicht durch direkte Beobachtung ausgeschlossen werden konnte (stärkere Vergrößerungen ergaben nur verschwommenere Bilder), so spricht doch folgendes entschieden gegen eine Mitbeteiligung am primären Färbungsbild:

1. Das Verschwimmen des Farbstoffes (eindeutig bisher nur Kaliumfluoreszein) nach den Längswänden zu, so daß in der ersten Beobachtungsminute keine scharfe Fluoreszenzgrenze nach den Seiten feststellbar war. Dies ist aber nur erklärbar, wenn sich der Farbstoff im Zellsaft befand. Würde er sich im Plasma vorwärtsschieben, wofür SCHUMACHER eintritt, müßte umgekehrt von einer deutlich nach außen scharf abgesetzten Randfluoreszenz die Fluoreszenzintensität nach der Siebröhrenmitte zu wahrnehmbar schwächer sein, wie dies bei nachträglicher Ansäuerung auch tatsächlich der Fall ist.

2. Besonders beweiskräftig gegen eine primäre Plasmawanderung scheint mir außerdem das Verhalten des Berberinsulfats, das vom Siebröhrenplasma sehr rasch gespeichert wird und charakteristische Speicherungsbilder liefert. Wenn die Wanderung im Plasma vor sich gehen würde, dürfte der Farbstoff diffus überhaupt nicht sichtbar sein. Denn bei den beobachteten Wanderungsgeschwindigkeiten (maximal 6 cm/h) müßte unter Berücksichtigung der viel größeren Speicherungsgeschwindigkeit der Farbstoffweg im Plasma nur durch ein sich ausbreitendes Speicherungsbild beobachtbar sein. Tatsächlich ging einer Speicherung aber *stets* eine diffuse Farbstoffausbreitung voraus.

II. Pelargonium zonale.

Wenn auch die weiten Siebröhren von *Bryonia* für einen Nachweis der Farbstofflokalisation im Zellsaftraum besonders geeignet waren, hielt ich es doch für wichtig, das Objekt, an dem die SCHUMACHERschen Schlußfolgerungen abgeleitet waren, zum Vergleich heranzuziehen. — Die Versuche wurden ebenfalls mit abgeschnittenen Blättern durchgeführt; die Methodik war die gleiche wie bei *Bryonia*. Es wurden die Farbstoffkonzentrationsreihen und die Farbstoff-Pufferversuche nachgeprüft.

Unter Zusammenfassung der Protokolle muß betont werden, daß sich *Pelargonium* gleich wie *Bryonia* verhielt. Bei Verwendung von Kaliumfluoreszein 1:100 erschienen die Siebröhren als die bekannten, hell leuchtenden, diffusen „Farbbänder", die vor den Siebplatten stärker leuchteten. Als einziger Unterschied gegenüber *Bryonia* blieben die Siebplatten ganz dunkel. Die ganze Breite der Zellen leuchtete gleichmäßig; vereinzelte Stärkekörner fluoreszierten. Die Versuche mit gepuffertem Kaliumfluoreszein gelangen auch hier, wenn auch nicht jede Versuchsserie gleichmäßig reagierte.

Da sich die Fluoreszenz über die ganze Breite der Zellen erstreckte, mußte sich der Farbstoff auch im Plasma befinden, das wegen seines größeren Volumens bei *Pelargonium* nicht übersehen werden konnte. — Nachträgliche Behandlung der Schnitte mit einem farblosen schwachsaueren Bad hatte die gleiche Wirkung wie bei *Bryonia*; das Plasma riß den Farbstoff auf Kosten der Vakuole an sich, und innerhalb der nächsten Minuten verblaßte das Fluoreszenzbild.

Weniger bedeutsam ist, daß auch hier der Farbstoff zweifellos im Plasma lokalisiert war, als vielmehr, daß er auch bei diesem Objekt erstmalig einwandfrei in der Vakuole zu finden war. Ins Plasma kann er — vor allem bei Annahme eines durchlässigen Tonoplasten (vgl. ROUSCHAL S. 152ff.) — sekundär ja leicht eindringen. Die Tatsache, daß meist kein Konzentrationsunterschied zwischen Vakuole und Plasma festzustellen war, läßt den Schluß berechtigt erscheinen, daß bei gleichzeitiger, kräftiger Vakuolenfärbung der Hauptteil des Farbstoffes auch im Plasma nicht gespeichert war, sondern es nur imbibierte.

Wenn an entspreiteten Blattstielen, die an beiden Enden in Leitungswasser tauchten, der Farbstoff in der Stengelmitte geboten wurde, wanderte der Farbstoff auch hier unpolar nach beiden Seiten.

D. Schlußbetrachtung.

Die Membranen des Phloems (geprüft an *Bryonia* und *Ranunculus aquatilis*) zeigen eine bemerkenswerte Wegsamkeit für Wasserverschiebungen, die sie mit denen des reduzierten Leitbündelsystems von

Helodea gemeinsam haben. Die Wanderung der Farbstoffe in den Membranen, die nur die Indikatoren der eigentlichen Wasserbewegung sind, ist eine rein passive Massenströmung[1]. Trotz der großen Geschwindigkeiten, die dabei im Experiment erzielt werden können, wird dieser Weg beim natürlichen Transport der Farbstoffe, und damit wohl auch der Assimilate, nicht ausgenutzt. Die biologische Bedeutung dieser Wegsamkeit hängt vielleicht mit der Wasserversorgung des Phloems zusammen. Wieweit sie mit der Mechanik der Assimilatleitung verknüpft ist, bleibt zu untersuchen. Bekanntlich fordert MÜNCH eine Ableitung des Siebröhrenwassers am Verbrauchsort über das Xylem. Diese Wasserverschiebung wäre leicht und rasch über das Membransystem möglich. Jedenfalls läßt sich eine Wasserkommunikation zwischen Xylem und Phloem sehr schön an dem häufigen Übertritt besonders sauerer Farbstoffe aus den Holzleitungsbahnen in das Phloem sehen. Auch in diesem Fall nimmt der Farbstoff den Weg über die Membranen.

Die vorliegende Arbeit hat ergeben, daß der Farbstoff, sowohl bei Farbstoffüberschuß als auch bei Verschiebung der Speicherungsverhältnisse im Siebröhrenplasma, außer im Plasma auch in der *Vakuole* auftritt. Damit fehlt aber, wie schon ROUSCHAL (S. 166) betonte, der SCHUMACHERschen Beweisführung die Sicherheit. In einer theoretischen Betrachtung konnte ROUSCHAL alle von SCHUMACHER beschriebenen Einzelheiten des Färbungsvorganges zwanglos auch vom Standpunkt der Massenströmung erklären. Aus seinen Versuchen über die Umkehr der Kaliumfluoreszeinwanderung gewann er die Überzeugung, daß der Farbstoffstrom ein Massenstrom und mit dem Assimilatstrom identisch ist. Erst in der vorliegenden Untersuchung konnte aber der Wanderungsvorgang zweier Fluoreszenzfarbstoffe im mikroskopischen Bild sichtbar gemacht und in seinen Einzelheiten verfolgt werden. Die Entscheidung fiel eindeutig zugunsten einer Vakuolenwanderung. *Damit bestehen aber keine Bedenken mehr, das Kaliumfluoreszein und ähnlich wandernde Stoffe vom Standpunkt der Massenströmungstheorie aus als Indikatoren des Assimilatstromes anzuerkennen.*

Wenn auch die Aufhebung der Polarität in der Farbstoffleitung in spreitenlosen Blattstielen noch manches Problematische in sich birgt, so ist diese Erscheinung bei Zugrundelegung einer Massenströmung leichter verständlich als bei Annahme einer Plasmawanderung. Man kann sie als eine Art Blutung verstehen: an beiden Stielenden haben wir das Siebröhrensystem angeschnitten, und der unter hohem Turgordruck stehende Siebröhreninhalt wandert zu den Orten des geringsten

[1] Dies ist gegenüber den Untersuchungen von HÜLSBRUCH (1945) über die Ausbreitung des Berberinsulfats im Wurzelgewebe besonders hervorzuheben.

Widerstandes — und diese sind *beide* Schnittflächen. Damit könnte im Zusammenhang stehen, daß in spreitenlosen Blattstielen von *Pelargonium* die Wanderungsstrecken bedeutend geringer sind als bei *Bryonia*, entsprechend der Tatsache, daß der *Pelargonium*stiel einen kaum merklichen Saftaustritt aus der Wunde zeigt, während *Bryonia* kräftig blutet.

Auch die übrigen Befunde dieser Arbeit fügen sich zwanglos in eine Massenströmungstheorie ein: 1. das gleichzeitige und gleichgerichtete Wandern eines saueren und eines basischen Farbstoffes in *einer* Siebröhre; 2. die Wanderungsfähigkeit anorganischer Salze in den Siebröhren, für die ein spreitungsähnlicher Wanderungsmechanismus wegen mangelnder Oberflächenaktivität sicher nicht in Frage kommt.

Betrachtungen zur Transportmechanik.

Wenn auch aus diesen Versuchen eine Massenströmung der Farbstoffe, und damit auch der Assimilate, abgeleitet werden muß, so ist die Mechanik dieser Bewegung doch noch immer sehr problematisch. Auch wenn wir berücksichtigen, daß durch starke Verquellung das Siebröhrenplasma, besonders in den Siebporen, hochpermeabel ist, so ist es doch nicht aus der Welt zu schaffen, daß das gesamte Siebröhrensystem bei Annahme einer (auch modifizierten) Druckstromtheorie eine hintereinandergeschaltete Kette von Filtrationswiderständen darstellt.

ROUSCHAL nimmt zu den Befunden von CURTIS und MASON, MASON und PHILLIS[1] über die Hemmung des Stofftransportes durch örtlichen Sauerstoffentzug vom Standpunkt der Massenströmungstheorie keine Stellung, sondern erwähnt sie lediglich ohne Kommentar. Will man diese Befunde aber nicht anzweifeln, darf man sie nicht übergehen. Auch die Schülerin W. SCHUMACHERs, A. SCHUMACHER, bringt in ihren Untersuchungen neue Argumente gegen die MÜNCHsche Vorstellung. Sie glaubt, dem Plasma eine entscheidende Rolle für die Stoffleitung zuschreiben zu müssen, wendet sich aber doch gegen die Vorstellung eines einfachen Spreitungsmechanismus.

HUBER (1939) konnte zeigen, daß die phylogenetische Entwicklung der Siebröhren von engporigen zu weitporigen geht. Wären die Siebröhren aber nur passive Leitungselemente für einen Massenstrom, dessen bewegende Kräfte unabhängig vom Zustand der Leitbahnen sind, dann müßte es im Laufe der phylogenetischen Entwicklung einen Selektionsvorteil bedeutet haben, wenn einmal Siebröhren aufgetreten wären, die im funktionstüchtigen Zustand überhaupt kein Plasma mehr aufgewiesen hätten; im Laufe der großen erdgeschichtlichen

[1] Zitiert nach HUBER 1936 und 1937.

Zeiträume wäre dieser Schritt bestimmt erreicht worden. Offenbar ist aber der prämortale Zustand funktionstüchtiger Siebröhren die äußerste Grenze, bis zu der die analoge Entwicklung der Siebröhren in Richtung der toten Holzelemente gehen konnte. Daß die Siebröhren noch immer *lebende* Zellen sind, muß aber offenbar ursächlich mit ihrer Funktion zusammenhängen. Dahin weist auch die O_2-Empfindlichkeit der Stoffleitung.

Es soll hier keine neue Theorie entwickelt werden — das ist auf Grund der vorliegenden Ergebnisse auch noch gar nicht statthaft — aber ich möchte doch auf eine Möglichkeit hinweisen, die außer den von HUBER (1936, S. 181) zusammengestellten 4 Möglichkeiten durchaus noch denkbar ist. Schon SCHUMACHER (1933) erwog, die Bewegungsmechanik auf kapillarelektrischem Gebiet zu suchen. Seine späteren Ansichten wenden sich aber mehr einer Stoffausbreitung in einem ruhenden Medium entlang Grenzflächen zu. Die Erscheinung der Elektroosmose, die hier in Frage kommt, ist aber eine Bewegung des Lösungsmittels, also ebenfalls eine Massenströmung. Wenn SUESSENGUTH (1938, S. 133) einen Assimilattransport unter Mitwirkung des Potentialgefälles z. B. zwischen Blatt und Wurzel diskutiert, dann gehen seine Gedankengänge in ganz ähnliche Richtung.

Das Auftreten einer ausreichenden radialen Potentialdifferenz zwischen Siebröhrenflüssigkeit und Plasmabelag, die auch die Größe des Potentialsprunges an der elektrischen Doppelschicht Plasma-Flüssigkeit ζ bestimmt, ist sicher gegeben. Eine elektrische Polarität der Siebröhrenzellen, die die benötigte transversale Potentialdifferenz liefern würde, ist bisher noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden. Es sei aber in diesem Zusammenhang aus einer noch nicht publizierten Untersuchung über die Kallusplattenbildung mitgeteilt, daß vielfach polare Unterschiede in der Speicherungsfähigkeit des Siebröhrenplasmas für den basischen Farbstoff Toluidinblau gefunden wurden. Falls diesen Beobachtungen allgemeine Bedeutung zukommt, was augenblicklich geprüft wird, dann wäre auch die Bedingung der elektrischen Polarität erfüllt. Die Aufrechterhaltung der Ladungsunterschiede zwischen Plasma und Siebröhrenflüssigkeit würde der Atmungsstoffwechsel besorgen, wodurch die Empfindlichkeit der Stoffleitung gegen Atmungshemmung ihre Erklärung fände. — Es ist noch zu früh, die Folgerungen, die sich aus einer derartigen Anschauung ergeben, im einzelnen zu diskutieren — die Siebröhren wären dann aber keine Widerstandsketten für eine Massenströmung mehr, sondern eher eine Kette hintereinandergeschalteter „Mikrodrüsen", die aktiv ihren Inhalt von Zelle zu Zelle weitergeben, eventuell überlagert durch eine Drucksaugströmung im Sinne von MÜNCH und FREY-WYSSLING.

Mit diesen Hinweisen ist aber das weitere Arbeitsprogramm umrissen, das klären soll, ob die eben ausgesprochenen Gedanken sich zu einer brauchbaren Arbeitshypothese verwenden lassen.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Die Membranen des Siebteils sind für kapillare Wasserverschiebungen hochgradig leitungsfähig — ähnlich wie die der Mittelrippe des *Helodea*blattes. Der Ferntransport von Fluoreszenzindikatoren, die in die Siebröhren eingeführt werden, geschieht aber nicht über den Membranweg. Die Bedeutung dieser Membranwegsamkeit wird kurz erörtert.

2. Mit steigender Farbstoffkonzentration ist, außer im Plasma, das Kaliumfluoreszein in zunehmendem Maße auch in der Vakuole der Siebröhren zu finden.

3. Bei alkalischer Pufferung des Siebröhreninhaltes erscheint auch bei schwachen Farbstoffkonzentrationen das Kaliumfluoreszein in der Vakuole. Die Wirkung des Puffers noch einige Zentimeter von der Einbringungsstelle beweist, daß auch anorganische Salze in den Siebröhren geleitet werden können.

4. Bekräftigt wird dieser Befund durch den Nachweis, daß auch KCNS in den Siebröhren wandern kann, wo es nachträglich durch Ausfällung mit Berberinsulfat nachgewiesen wurde.

5. Von anderen fluoreszierenden Farbstoffen wurden als wanderfähig gefunden: Primulin, Rhodamin B und 6 G, Chinin, Berberinsulfat.

6. Das basische Berberinsulfat hat das gleiche Wanderungsverhalten wie das Kaliumfluoreszein. Beide Farbstoffe konnten auf ihrem Wanderungsweg in der gleichen Siebröhre nachgewiesen werden.

7. Mit Kaliumfluoreszein und Berberinsulfat wurde der Wanderungsvorgang unmittelbar unter dem Mikroskop verfolgt. Vor einer Speicherung findet stets erst eine diffuse Ausbreitung statt, die in der Vakuole lokalisiert ist. Die Einzelheiten der Färbungsbilder sowie die übrigen Befunde der vorliegenden Arbeit können nur durch eine primäre Wanderung der Indikatoren in der Vakuole der Siebröhren im Sinne einer Massenströmungstheorie erklärt werden.

8. Die Mitbeteiligung des Siebröhrenplasmas an einer Massenströmung über elektroosmotische Vorgänge wird kurz diskutiert.

Literatur.

BOTH, M. P.: Stoffwanderung in einfachen Systemen. Rec. Trav. bot. néerl. **34**, 1 (1937). — CRAFTS, A. S.: Translocation in plants. Plant. Physiol. **13**, 791 (1938). — Movement of viruses, auxins and chemical indicators in plants. Bot

Rev. **5**, 471 (1939). — Döring, H.: Versuche über die Aufnahme fluoreszierender Stoffe in lebende Pflanzenzellen. Ber. dtsch. bot. Ges. **53**, 415 (1935). — Frey-Wyssling, A.: Der Milchsafterguß von *Hevea brasiliensis* als Blutungserscheinung. Jb. Bot. **77**, 560 (1932). — Dynamik des Saftergusses aus turgeszenten Kapillaren. Ber. schweiz. bot. Ges. **42**, 254 (1933). — Huber, B.: Wasserumsatz und Stoffbewegung. Fschr. Bot. **5**, 172 (1936); **6**, 151 (1937). — Das Siebröhrensystem unserer Bäume und seine jahreszeitlichen Veränderungen. Jb. Bot. **88**, 176 (1939). — Hülsbruch, M.: Fluoreszenzoptische Untersuchungen über den Wasserweg in der Wurzel. Planta (Berl.) **34**, 221 (1945). — Mason, T. G., and E. Phillis: The migration of solutes. Bot. Rev. **3**, 47 (1937). — Münch, E.: Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena 1930. — Rhodes, A.: The movement of fluorescein in the plant. Proc. Leeds philos. lit. Soc. **3**, 389 (1937). — Rouschal, E.: Untersuchungen über die Protoplasmatik und Funktion der Siebröhren. Flora (Jena) **135**, 135 (1941). — Schenk, H.: Vergleichende Anatomie der submersen Gewächse. Cassel 1886. — Schumacher, A.: Beitrag zur Kenntnis des Stofftransportes in dem Siebröhrensystem höherer Pflanzen. Planta (Berl.) **35**, 642 (1947). — Schumacher, W.: Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Siebröhren. Jb. Bot. **77**, 685 (1933). — Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Haaren von *Cucurbita*. Jb. Bot. **82**, 507 (1936). — Weitere Untersuchungen über die Wanderung von Farbstoffen in den Siebröhren. Jb. Bot. **85**, 423 (1937). — Strugger, S.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora (Jena) **132**, 253 (1938 a). — Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. I. Mitteilung: Die Methode und die ersten Beobachtungen. Flora (Jena) **133**, 56 (1938 b). — Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. 2. Die Eigenschaften des Berberinsulfats und seine Speicherung durch lebende Zellen. Biol. Zbl. **59**, 274 (1939 a). — Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. 3. Untersuchungen an *Helxine Soleirolii Req.* Biol. Zbl. **59**, 409 (1939 b). Suessenguth, K.: Neue Ziele der Botanik. München 1938.

Dr. L. Bauer, Botanische Staatsanstalten, München 38, Menzingerstr. 67.

Planta, Bd. 37, S. 244—292 (1949).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn.

PLASMOLYSEFORM UND MINERALSALZGEHALT IN ALTERNDEN BLÄTTERN.

II. Mitteilung.
UNTERSUCHUNGEN AN LAND- UND SCHWIMMPFLANZEN.

Von

HERMANN FISCHER.

(Eingegangen am 7. Februar 1949.)

I. Einleitung.

Die Wandlung in der Leistungsfähigkeit der Organismen mit der Zeit ist dem Physiologen zunächst ein methodisches Hindernis, das er aus seiner Analyse zu eliminieren versucht, das ihn aber auch immer wieder anzieht, weil es eine Veränderlichkeit seiner Objekte anzeigt, die nicht von außen, sondern aus dem Organismus selbst bestimmt und damit ein Merkmal des Lebens zu sein scheint. Die mannigfaltigen Phänomene, die unter dem Begriff des Alterns zusammengefaßt werden, entsprechen der Vielzahl der Baupläne und Leistungen der Lebewesen; demgemäß unterscheiden sich auch die Theorien über ihre Ursachen, von denen die einen die funktionellen, die anderen die strukturellen Veränderungen in den Vordergrund stellen, die einen von der Einzelzelle, die anderen vom ganzen Organismus oder von der Population ausgehen. Bis zum Beweise des Gegenteils wird man versuchen, für ein so charakteristisches Merkmal der belebten Welt eine gemeinsame Grundlage in der Fülle der Erscheinungen zu finden.

Bei der höheren Pflanze speziell altern und sterben einzelne Organe, ohne daß die überlebenden darunter leiden, diese können vielmehr aus der Beeinträchtigung der anderen Vorteile ziehen. In der folgenden Darstellung werden unter dem Altersbegriff einmal die Verschiebungen zusammengefaßt, die sich in den physiologischen Größen der Organe stetig vollziehen, dann aber auch diejenigen, die unter dem Einfluß besonders eingreifender Vorgänge wie Blütenbildung und Jahreszeit eintreten. Obwohl die Auslösung eine verschiedene sein mag, sind die Wirkungen so ähnlich und die Verflechtungen so weitgehend, daß eine Zusammenfassung gerechtfertigt ist. Auch das Stadium des Vergilbens der Blätter wird, soweit die Zellen noch leben, in den Altersbegriff eingeschlossen. Dagegen sollen Vorgänge, die mit der Entwicklung von Geschlechtszellen zusammenhängen, hier nicht erörtert werden, da man bei ihnen auch von einer Verjüngung sprechen könnte.

Unter diesen Gesichtspunkten sollen im folgenden kurz die für das Altern der Blätter herausgearbeiteten biochemischen Verhältnisse besprochen werden, denen nur wenige zellphysiologische Daten gegenüberstehen (vgl. auch die zusammenfassenden Darstellungen bei PAECH, 1940a, b).

II. Die physiologischen Kennzeichen des Alterns der Laubblätter.

Der Vergleich der Ergebnisse über die Verschiebungen im Stoffwechsel mit dem Alter der Blätter liefert ein im einzelnen uneinheitliches Bild. Die in der Literatur verstreuten Daten liegen oft am Rande von Arbeiten mit anderem Ziel, „jung" und „alt" dienen zur Bezeichnung sehr verschiedener Entwicklungsstadien, auch die Verschiedenheit der Objekte und Bezugsgrößen sowie die oft nicht näher bezeichneten Versuchsbedingungen gestatten es nicht immer, die Befunde zueinander in Beziehung zu setzen. Der Begriff des Blattalters selbst wird nicht im gleichen Sinne gebraucht; einerseits ist damit das Alter des Einzelblattes vom Zeitpunkt seiner Entfaltung an gemeint, andererseits werden obere und untere Blätter gleichzeitig verglichen. RICHARDS (1934) zeigt an einigen Beispielen aus der Literatur, daß die gleichzeitige Untersuchung von Blättern verschiedener Insertion zu Irrtümern über den wahren Verlauf der physiologischen Entwicklung führen kann; die späteren Blätter werden unter anderen inneren und äußeren Bedingungen am Vegetationspunkt angelegt und weiter ausgebildet, sodaß sich das Alter der ganzen Pflanze mit dem Individualalter des Blattes überlagert. Es ist bemerkenswert, daß beide Arten des „Alters" im Ganzen in der gleichen Richtung zu wirken scheinen. Die Überlagerung zeigt sich vor allem bei krautigen Pflanzen, in denen die oberen Blätter mehr oder weniger auf Kosten der unteren leben; besonders bei Mangelerscheinungen wird dies deutlich. Unter dem Einfluß von Blüten und Früchten werden die älteren Blätter von transportablen Stoffen zum Teil entleert und in ihrer Funktionsfähigkeit herabgesetzt; durch Entfernen von Blüten und Früchten oder durch Zufuhr fehlender Nährstoffe kann ihr Leben oft verlängert werden. Außer dem Gesamtalter der Pflanze und dem Alter des Einzelblattes sind für seinen Entwicklungsablauf Nährstoffaufnahme und -transport sowie andere Korrelationen schließlich auch die saison- und standortbedingten Außenfaktoren entscheidend. Die Trennung dieser Faktoren im Experiment ist meist nicht versucht worden.

Unter den Veränderungen, die im Stoffwechsel mit dem Alter der Blätter erfolgen, sind die des Stickstoffs am ausgiebigsten bearbeitet worden. Der Gehalt an Gesamt-N und Eiweiß-N ist im allgemeinen in jungen Blättern höher als in älteren; umgekehrt kann aber in Monokotylenblättern bezogen auf das Frischgewicht der Eiweißgehalt in den

älteren Teilen doppelt so hoch sein wie in den jüngeren basalen Teilen des Blattes (PEARSALL und BILLIMORIA für *Narcissus*). Die Arbeiten von SMIRNOW, GOUWENTAK (1928, 1929) und MOTHES (1931) zeigen übereinstimmend eine Abnahme von Gesamt-N und Eiweiß-N (bezogen auf Frischgewicht oder Blattfläche) in den Blättern während der Blütezeit; hiervon sind vor allem die unteren, wenig oder gar nicht die oberen betroffen; nach der Blüte kann der N-Verlust wieder ergänzt werden, wobei ebenfalls die oberen Blätter bevorzugt sind. In Pflanzen, deren Blüten entfernt wurden, nimmt der Gesamt-N je Blattfläche (schwächer auch der Eiweiß-N) bis zum Vergilben zu (SMIRNOW). Auch in Submersen beherrschen die Blüten in dieser Weise den Stoffwechsel; so geben die Blätter von *Potamogeton perfoliatus* 30% ihres Stickstoffs an den Blütensproß ab (PEARSALL und BILLIMORIA). Die Beziehungen zwischen den Organen werden durch Tagesschwankungen überlagert, die sich besonders im Anteil des Eiweiß-N und der anderen Fraktionen am Gesamt-N ausdrücken und wohl eine Ursache für das unklare Bild hinsichtlich der Veränderungen der N-Fraktionen mit dem Alter sind. N-Mangel verstärkt die Verschiebung aus den unteren in die oberen Blätter (z. B. ENGEL). Die Frage, ob mit dem Alter der Blätter ihre Fähigkeit zur Eiweißbildung allmählich nachläßt, ist mindestens noch nicht positiv entschieden worden, quantitative Betrachtungen sprechen dafür, daß im Ernährungsversuch (z. B. PEARSALL und BILLIMORIA) bei den beobachteten Differenzen die Menge der zugeführten wirksamen Komponenten und des bereits in den Zellen vorhandenen Eiweißes maßgebend ist (PAECH 1940a). Ein rascher Eiweißabbau im Zusammenhang mit einem Erlöschen der Fähigkeit zur Synthese tritt erst im letzten Stadium des Blattes vor und während des Vergilbens ein, wobei die Spaltprodukte aus dem Blatte abtransportiert werden.

Die Gesamtkohlenhydrate verhalten sich dem Gesamt-N ähnlich, auch bei ihnen ist die Depression zur Blütezeit auffallend, nach welcher der Kohlenhydratgehalt der Blätter bis zum Vergilben wieder ansteigt, um dann endgültig abzufallen (z. B. SMIRNOW). Die Verschiebungen in den einzelnen Fraktionen sind hier noch undurchsichtiger als beim N-Haushalt; Artspezifität, Tagesschwankungen und Translokationen scheinen sich noch stärker auszuwirken.

Als Eiweißbestandteil zeigt Schwefel ein ähnliches Verhalten wie Stickstoff. Der Gehalt an Eiweiß-S und Neutral-S (bezogen auf Frischgewicht) ist in den oberen Blättern der Tabakpflanze höher als in den unteren, während sich der Gesamt-S infolge des hohen Sulfatgehalts der unteren Blätter umgekehrt verhält (MOTHES 1939). Ähnlich liegen beim Spinat die Dinge für Phosphor (MICHAEL und HEIDECKER): Eiweiß-P (auch Lipoid-P) nehmen mit dem Alter der Pflanze und von oben nach unten ab, d. h. im selben Sinne wie der Eiweiß-N, aber in

noch stärkerem Maße, so daß das Verhältnis P:N im Eiweiß junger Blätter am größten ist (Nukleoproteide!). Der Gesamtphosphorsäuregehalt ist je Trockengewicht bei guter P-Ernährung in den unteren Blättern höher, während bei P-Mangel die jungen Blätter soviel an sich ziehen, daß sie P-reicher sind als die unteren. P wird ähnlich wie N im Phloem aus den unteren in die oberen Blätter geleitet, wie MASON, MASKELL und PHILLIS an der Baumwollpflanze zeigten.

Für die Unterschiede im Kationengehalt von Blättern verschiedener Insertion ist offenbar die Beweglichkeit der einzelnen Elemente von entscheidender Bedeutung. Am leichtesten wandert Kalium nach oben, die Abnahme des K-Gehalts von den oberen zu den unteren Blättern ist vielfach belegt (vgl. SCHMALFUSS). Neuere Ergebnisse hierzu bringt ILJIN, doch ist seine Annahme, daß die K-Auswanderung erst beim Vergilben der Blätter einsetzt, aus den von ihm mitgeteilten Analysen, die als Prozente des Trockengewichts oder Zellsaftkonzentration ausgedrückt werden, nicht unbedingt abzuleiten. Die unteren Blätter werden vor allem bei K-Mangel entleert. In den Versuchen von MASON, MASKELL und PHILLIS wird K im Gegensatz zu P und N außer im Phloem auch im Xylem aufwärtsgeleitet. An Kalzium, das im Phloem unbeweglich ist, haben die unteren Blätter meist den höchsten Gehalt, das Verhältnis K : Ca nimmt mit dem Alter allgemein ab. Eine Mittelstellung zwischen beiden nimmt Magnesium ein; MICHAEL (1941) fand an Hafer und Bohnen ähnliche Verhältnisse wie für P: der Mg-Gehalt je Trockengewicht ist bei reichlicher Mg-Versorgung in den unteren, bei Mg-Mangel in den oberen Blättern höher, bei Mg-Mangel wird Mg aus den unteren Blättern mobilisiert, wenn auch nicht in dem Maße wie K bei K-Mangel. Ähnlich wie bei N, P und K ist auch bei Mg-Mangel die Lebensdauer der Blätter verkürzt, sie vergilben vorzeitig (LUTMAN und WALBRIDGE, MICHAEL 1941). Die Wirkung des Nährstoffmangels auf die Ausbildung der Blätter, die umgekehrt beim Fehlen des nicht beweglichen Kalzium zur Hemmung des Spitzenwachstums führt, ist allgemein bekannt.

Wie für die Veränderungen in der Zusammensetzung der Laubblätter, so bringt auch für die Assimilation und die Atmung die Blütezeit einen Einschnitt. So finden SINGH und LAL für Weizen und Lein, bezogen auf Blattfläche, ein Maximum der CO_2-Aufnahme zur Blütezeit, danach einen steilen Abfall, wobei zu jedem Zeitpunkt die Assimilationsgröße der jüngeren Blätter über der der älteren liegt. Zuckerrohr liefert ähnliche, aber wesentlich flachere Kurven. Die Schwankungen werden nur bei 0,35% CO gemessen, bei normalem CO_2-Gehalt der Luft fehlen sie. SPANING konstatiert bei verschiedenen Pflanzen, bezogen auf Blattfläche bei normalem CO_2-Gehalt, einen Assimilationsanstieg bis zur Zeit der Ausbildung der Blütenknospen, danach ein

Absinken, dem ein zweites Maximum zur Zeit der Fruchtbildung folgt; bei sterilen Pflanzen treten keine Maxima auf, sondern die Assimilationsgröße hält sich nach einem Anstieg auf gleicher Höhe, um erst kurz vor dem Absterben der Pflanzen abzusinken. Nach WEILING, der mit diözischen Pflanzen (ebenfalls bei normalem CO_2-Gehalt und Blattfläche als Bezugsgröße) arbeitete, verhalten sich weibliche einjährige Pflanzen (*Mercurialis annua, Spinacia oleracea*) wie die fruchtenden Pflanzen in SPANINGS Versuchen, während bei den männlichen das zweite Maximum ähnlich wie in SPANINGS sterilen Pflanzen fehlt. Bei einer mehrjährigen diözischen Pflanze (*Rumex acetosa*) tritt auch beim männlichen Geschlecht ein Wiederanstieg auf, im ganzen ist der Verlauf hier unregelmäßiger als bei Annuellen. In den Versuchen von GREGORY und RICHARDS (1929) zeigen allgemein die später angelegten Blätter der Gerste niedrigere Assimilationsintensität in einer durch die Atmung der Blätter mit CO_2 angereicherten Atmosphäre als die früheren; die Wirkung des Alters der Pflanze macht sich vor allem bei hoher Lichtintensität bemerkbar, während sich bei niedriger vor allem die Einflüsse der verschiedenen Düngungen des Versuchs auswirken. (Die Ergebnisse werden auf die Blattfläche bezogen; gemessen wird hier ebenso wie von SINGH und LAL die „wirkliche" Assimilation nach Abzug der Atmung, während in den übrigen Arbeiten der Assimilationsüberschuß bestimmt wird.) SIMONIS findet bei gleichzeitiger Untersuchung verschieden inserierter Blätter von *Trifolium incarnatum*, bezogen auf die Blattfläche von oben nach unten, zunächst einen Anstieg, danach einen Abfall der Assimilation (bei 0,9% CO_2), wobei neben der Höhe der Assimilationswerte auch die Lage des Maximums durch die Bodenfeuchtigkeit beeinflußt wird. Auch in den Untersuchungen von GASSNER und GOEZE über die Beeinflussung der Photosynthese junger Weizenpflanzen durch K- und N-Düngung (bei normalem CO_2-Gehalt und Blattfläche als Bezugsgröße) tritt der Altersfaktor für das Einzelblatt in Erscheinung. Im ersten Blatt, das ausschließlich untersucht wurde, nimmt die CO_2-Aufnahme nach anfänglichem Anstieg mit dem Alter ab, wobei die Ernährung insofern von Bedeutung ist, als Zeitpunkt und Höhe des Maximums durch Erhöhung des Minimumfaktors (K oder N) verschoben werden können. Die Versuchspflanzen wurden unter konstanten Bedingungen angezogen; ALTEN, GOEZE und FISCHER setzten diese Arbeiten unter Berücksichtigung des N-Haushalts fort. In ihren Versuchen hat das erste Blatt am 13. Tag (vom Einlegen der Körner gerechnet) bereits seinen höchsten Gesamt-N- und Eiweißgehalt (bezogen auf Blattfläche) erreicht ,während die Assimilation erst nach dem 18. Tag nachläßt; der Quotient Eiweiß-N : lösl. N, durch welchen das Gleichgewicht zwischen Eiweißaufbau und -abbau besser charakterisiert wird als durch den von der Bezugsgröße abhängigen Eiweiß-

gehalt, steigt dagegen bis zum 25. Tage an und sinkt danach ab, so daß man schließen darf, daß die Assimilation vor der Eiweißsynthese von einem Altersfaktor betroffen wird. Dies gilt zunächst nur für die Bedingungen dieses Experiments, die vor allem hinsichtlich der Beleuchtung bei der Anzucht der Versuchspflanzen nicht optimal waren. Gesteigerte K-Gabe äußert sich in einer Erhöhung der Stoffproduktion und des Eiweißanteils am Gesamt-N, eine zeitliche Verschiebung der Maxima ist hier nicht erkennbar.

Für den Verlauf der Atmung während der Entwicklung einer einjährigen Pflanze ist besonders der Befund von SMIRNOW interessant, der für die unteren Blätter von *Helianthus* und *Nicotiana* ein Minimum der CO_2-Produktion je Trockengewicht zur Blütezeit angibt; bei „geköpften" Pflanzen fehlt dieses Minimum, bei ihnen bleibt die Atmung nach anfänglichem Absinken gleich (vergilbende Blätter wurden anscheinend nicht untersucht). In den Arbeiten des Londoner Pflanzenphysiologischen Instituts wird die Atmung von Gerstenblättern bald nach ihrer Entfaltung untersucht und dabei ein Abfall von den früheren zu den späteren, zum Teil ein Wiederanstieg in den letzten Blättern gefunden (GREGORY und RICHARDS, GREGORY und SEN, RICHARDS 1938). Die Ergebnisse von HOVER und GUSTAFSON an verschiedenen Pflanzen interpretiert RICHARDS (1934) unter Berücksichtigung des Alters der ganzen Pflanze und des Einzelblattes (s. oben) dahin, daß die Atmung je Trockengewicht sowohl vom früheren zum späteren als auch mit dem Alter des Einzelblattes schwächer wird, wie es auch KIDD, WEST und BRIGGS für *Helianthus annuus* angeben. Übereinstimmend damit ist die O_2-Aufnahme von älterem Gewebe (Schnitte aus Tomatenstengeln) geringer als von jüngerem (CALDWELL und MEIKLEJOHN), die geringere Atmung ganz jungen Gewebes ist durch Mangel an Atmungsmaterial bedingt, da sie durch Zuckerzusatz gesteigert werden kann. In älteren Arbeiten über die Altersabhängigkeit der Atmungsgröße (vgl. NICOLAS) sprechen die stark schwankenden respiratorischen Quotienten für die Unzulänglichkeit der Methoden. Qualitative Veränderungen der Atmung mit dem Alter deuten einige Versuche von MARSH und GODDARD an: In jüngeren Blättern von *Daucus Carota* (den inneren der Rosette) verläuft die Atmung wenigstens teilweise über ein System, das durch CO, HCN und NaN_3 blockiert werden kann, während sie in den äußeren gegen diese Gifte unempfindlich ist.

VAN DE SANDE-BAKHUYZEN berichtet in einer Monographie über die quantitativen Verhältnisse bei der Entwicklung des Weizens vom Jugendstadium bis zur Ährenreife. Seine Versuchsanordnung, bei der die Pflanzen unter konstanten Bedingungen und bei Dauerbeleuchtung kultiviert werden, verschafft ihm ein außerordentlich einheitliches Pflanzenmaterial, das nach Organen und Einzelblättern getrennt analysiert

ein genaues Bild über die zeitlichen Verschiebungen von Frisch- und Trockensubstanz, Wasser, Gesamt-C und Gesamt-N liefert. Die Ergebnisse sind nicht nur für die Stoffproduktion des Weizens, sondern auch für die Analyse des Altersvorgangs bedeutsam. Die Umstimmung des Gesamtstoffwechsels zur Blütezeit läßt sich zeitlich präzisieren und auch am Wasserhaushalt ablesen; der Wassergehalt (auf die Blattfläche bezogen), der zuerst ansteigt, sinkt 1—2 Tage nach dem Erscheinen der Stamina, d. h. zur Zeit der Befruchtung, in sämtlichen Blättern rasch ab, während das Trockengewicht bis zum Ende der Entwicklung zunimmt. Auch im absoluten Wassergehalt der Blätter und noch stärker der Halme ist dieser Wendepunkt bemerkbar. Der Wassergehalt ist in den unteren Weizenblättern am höchsten, die oberen sind mehr „xeromorph". Auch im absoluten und relativen N-Gehalt tritt in den Kurven ein Knick zur Blütezeit auf. Besonders interessant ist in diesem Stadium (31. bis 35. Tag des Versuchs) eine beträchtliche N-Abnahme der gesamten oberirdischen Teile der Pflanze, die der Autor mit einer Rückwanderung in die nicht analysierten Wurzeln erklärt; nach der Blüte nimmt die oberirdische Pflanze insgesamt und besonders in den heranwachsenden Früchten wieder an N zu, während die Blätter weiter N verlieren. Der absolute N-Gehalt ist in den obersten Blättern am höchsten, ebenso der relative (bezogen auf Trockengewicht oder Blattfläche), in den obersten Blättern wird der N-Gehalt am längsten aufrechterhalten, im Endstadium ist er in allen Blättern ungefähr auf den gleichen prozentualen Gehalt abgesunken. Diese Ergebnisse stimmen mit den Arbeiten von SMIRNOW, GOUWENTAK und MOTHES (1931) überein, durch die Konstanz der Anzuchtbedingungen lassen sich aber Einzelheiten aufzeigen, die bei nicht definiertem Pflanzenmaterial verborgen bleiben; so geht dem definitiven N-Verlust zur Blütezeit ein temporärer bei der Streckung der Ähren voraus, auch stellen die absoluten Werte für jedes Blatt sicher, daß die veränderte Höhe des N-Gehalts wirklich eine Aufnahme oder Abgabe von Stickstoff bedeutet. Zum Vergleich seien hier die Feldversuche von DELEANO und GOTTERBARM herangezogen, welche ebenfalls in den beblätterten Halmen von Roggen und Gerste zur Blütezeit eine Abnahme von H_2O, K, Mg, PO_4 und N (absolut), nach der Blüte in den gesamten oberirdischen Teilen nur für H_2O und K fanden, während für die anderen Stoffe die Ergebnisse uneinheitlich sind. Auch v. DOBY und v. FÜLECKY bestimmen den höchsten Absolutgehalt an Gesamt-N, Eiweiß-N und Amid-N in den Blättern der Sojabohne zu Beginn der Blüte, in den Stengeln etwas später.

VAN DE SANDE-BAKHUYZEN interpretiert im Anschluß an MOTHES (1933) seine Versuche und die Literatur mit der Annahme eines Atmungshormons, das von jedem aktiven Vegetationspunkt gebildet durch Aufrechterhaltung des Oxydationspotentials die Proteasen inaktiviert;

Unterschiede des Oxydationspotentials führen zum Eiweißabbau in den älteren Blättern und als Folge davon zum N-Transport in die jüngeren. Für Pflanzen, bei denen nach der Blüte eine „Erholung" im N-Haushalt der Blätter eintritt, wird eine Hormonproduktion durch die Samenanlagen angenommen. Seinen Versuch zu einem Gesamtbild der physiologischen Korrelationen in der Pflanze kann auch VAN DE SANDE-BAKHUYZEN in wesentlichen Punkten nur an Hand der Literatur diskutieren, die er zu seinen Ergebnissen in Beziehung setzt. Seine Versuchstechnik könnte wohl am ehesten, wenn auch Mineralstoffe, Stickstoff- und Kohlenhydratfraktionen bestimmt, Assimilations-, Atmungs- und Fermentmessungen einbezogen würden, ein zusammenhängendes Tatsachenmaterial liefern, das hinsichtlich der Verknüpfungen im Stoffwechsel mit dem Alter höherer Pflanzen als Grundlage für theoretische Erörterungen geeignet wäre. Besonders bei seiner Besprechung der Zusammenhänge von Atmung und N-Haushalt macht sich das Fehlen von Tatsachen bemerkbar. In den Arbeiten des Londoner Instituts an Gerste wird die Korrelation zwischen Atmung, Eiweiß-N und Amino-N hervorgehoben, zu der erst bei sehr starkem K- oder P-Mangel eine Abhängigkeit der Atmung vom Zuckergehalt tritt (GREGORY und SEN, RICHARDS 1938). Für eine umfassendere Analyse der Blütenwirkung auf den Gesamtstoffwechsel bieten auch die Untersuchungen von SMIRNOW eine Grundlage; seitdem sind durch die Feststellung der Blühhormone neue Hinweise hierzu gewonnen worden. Einen Vorstoß auf ihre Rolle beim Atmungsstoffwechsel macht die Arbeit von CLAES, nach welcher bei *Hyoscyamus* Faktoren, welche die Blütenbildung fördern, auf die CO_2-Abgabe hemmend wirken.

Aus den besprochenen Arbeiten an krautigen Pflanzen lassen sich bei aller Verschiedenheit im einzelnen gewisse gemeinsame Züge erkennen, ohne daß dabei die kausale Verknüpfung deutlich wird. Die Beziehungen zwischen Blättern verschiedenen Alters sind durch die Stoffbewegungen beherrscht, es ist aber unklar, ob z. B. im Eiweißhaushalt der Bedarf jüngerer Blätter, Blüten oder Früchte durch ein Konzentrationsgefälle den Eiweißabbau in den älteren Blättern hervorruft, oder ob umgekehrt der durch einen „Altersfaktor" bewirkte Abbau die Auswanderung der Spaltprodukte veranlaßt, oder ob beide Ursachen ineinandergreifen. Die enge Wechselbeziehung zwischen den einzelnen Blättern fehlt bei den Holzpflanzen, wo die jüngeren nicht von den älteren, sondern aus dem Stamm versorgt werden. Nach MOTHES (1931) zeigen *Syringa*-Blätter nur im Jugendstadium Unterschiede im N-Gehalt und Trockengewicht, dagegen sind ausgewachsene physiologisch gleichwertig, und die herbstliche Entleerung geht ohne Altersunterschiede vor sich; im Juli fehlt auch eine deutliche Tagesperiodizität des N-Haushalts, während im September tags und nachts N abgegeben wird.

Im ganzen stimmen die Angaben der Literatur darin überein, daß eine starke Auswanderung von N, P, K und Mg (schwächer) zur Zeit des herbstlichen Vergilbens erfolgt, während Ca und Si bis zum Blattfall zunehmen oder nach Erreichen eines Höchstwertes ziemlich konstant gefunden werden. Meist wird für die beweglichen Stoffe ein allmähliches Abnehmen schon für die zweite Hälfte des Sommers angegeben, im einzelnen unterscheiden sich die Angaben auch hier wieder sehr. Die älteren Arbeiten sind bei SWART, RIPPEL und CZAPEK (S. 427/28) besprochen, neuere Ergebnisse bringen DELEANO und ANDREESCO sowie DELEANO und BORDEIANU. Bei zwei verschiedenen amerikanischen Eichenarten kommen quantitative Unterschiede der einzelnen Mineralstoffe in den Blättern, die standort- und artbedingt sein mögen, in den Versuchen von SAMPSON und SAMISCH zum Ausdruck, ähnlich setzt nach BÖTTICHER und BEHLING bei *Acer pseudoplatanus* die Verringerung des K-Gehalts in Sonnenblättern schon nach Beendigung des Wachstums, bei Schattenblättern erst im Herbst ein; die frühzeitige K-Abgabe, die durch Darstellung der Ergebnisse als Absolutgehalt ebenso wie in den zuletzt genannten Arbeiten gesichert ist, könnte mit dem höheren K-Gehalt der Sonnenblätter zusammenhängen. ÉCHEVIN (1931) findet an verschiedenen Bäumen und Sträuchern für N starke Abnahme erst beim Vergilben, während der P-Gehalt schon im Mai deutlich geringer wird. Bei der herbstlichen Entleerung verschwindet der Lipoid-P und der lösliche P nimmt auf Kosten der mit Trichloressigsäure fällbaren Fraktion zu (ÉCHEVIN 1936), ebenso wird organischer S im Herbst in Sulfat überführt, doch scheinen die Angaben, daß keine S-Auswanderung im Zusammenhang damit auftritt (ÉCHEVIN 1931) aus den mitgeteilten Daten nicht gesichert (MOTHES 1939). Für die zurückgeleiteten Stoffmengen ist von Bedeutung, zu welchem Zeitpunkt das Trennungsgewebe im Blattstiel in Funktion tritt, das an sich kein Hindernis für den Stofftransport ist, wie MICHEL-DURAND und QUENDIAC für Phosphor zeigten.

Aus immergrünen Blättern findet keine herbstliche Stoffentleerung statt, wenn die Blätter grün bleiben (SATTLER für N, SABALITSCHKA und WIESE für K, ÉCHEVIN 1936 für P). Beim Vergilben setzt in den Blättern von *Prunus Laurcerasus* (MICHEL-DURAND 1932) starke Proteolyse und N-Verlust ein, auch P und K wandern aus, S aber nicht; Phytin-P verschwindet mehr oder weniger (MICHEL-DURAND 1935). Auch der K-Gehalt je Trockengewicht wird beim Vergilben von Efeublättern geringer (SABALITSCHKA und WIESE).

Über die Photosynthese von Blättern ausdauernder Pflanzen geben WILLSTÄTTER und STOLL ausführliche Versuche an verschiedenen Objekten wieder: danach liegt das Assimilationsmaximum zur gleichen

Zeit wie das Maximum des Chlorophyllgehalts (Bezugsgröße Blattfläche oder Frischgewicht), ein starker Abfall findet erst beim Vergilben statt. Auch im Sommer assimilieren vergilbte Blätter schwächer als grüne, die Assimilation abgefallener grüner Blätter ist gegenüber Blättern am Baum im allgemeinen nicht herabgesetzt. Auf den Chlorophyllgehalt bezogen (Assimilationszahl WILLSTÄTTERs und STOLLs) kann die Assimilation beim Vergilben ab- oder zunehmen, die Chlorophyllmenge wirkt hier also nicht als begrenzender Faktor. Der Chlorophyllschwund folgt bei vergilbenden *Tropaeolum*-Blättern dem Eiweißabbau und kann experimentell mit diesem variiert werden (MICHAEL 1935).

Die besprochene Literatur zeigt, daß die biochemischen Größen der Blätter einmal durch den Zeitpunkt ihrer Anlage bestimmt werden, und daß sich dadurch Gradienten in Zusammensetzung und Funktion ergeben. Viel bedeutsamer sind aber bestimmte Ereignisse im Leben der Pflanze, so Blüte und Befruchtung bei den Kräutern, herbstliche Rückwanderung bei den Holzpflanzen. Die Ursachen dieses eindrucksvollen Vorganges sind nach dem Verhalten laubwerfender Bäume der Tropen nicht nur in den Außenbedingungen zu suchen; für die besprochenen geringfügigen Verluste an Blattinhaltsstoffen im Laufe des Sommers mögen Stofftransporte auf Grund von Konzentrationsdifferenzen infolge des Stoffbedarfs von Stamm und Wurzeln vielleicht ausreichende Ursachen sein, sie vermögen aber den schlagartig einsetzenden herbstlichen Abbau nicht zu erklären. Hier greift ebenso wie beim Blühen krautiger Pflanzen ein anderer, viel wirksamerer Faktor ein ("catabolic impulse" nach VAN DE SANDE-BAKHUYZEN), welcher der Lebenstätigkeit der Blätter eine neue Richtung gibt, die ihren Tod einleitet. Anders wirkt ein solcher Impuls bei krautigen Pflanzen, bei denen die Blätter infolge ihres differenzierten physiologischen Alters ihm einen von unten nach oben zunehmenden Widerstand entgegensetzen; es sterben höchstens die unteren ab, während die übrigen sich nach der Blüte mehr oder weniger erholen können. Dies gilt für Sommerblüher, bei denen nach WEILINGs und SPANINGs Versuchen das Gynäzeum eine wesentliche, aber nicht ausschließliche korrelative Rolle zu spielen scheint, bei anderen Typen liegen andersartige Steuerungen vor; Altern und Vergilben der unteren Blätter tritt auch bei nichtblühenden Pflanzen ein. Außenbedingungen, Stoffbedarf und spezifische innere Faktoren sind in ihrer Wirkung auf das physiologische Alter des Blattes so eng verflochten, daß ihr Anteil nicht zu trennen und es nicht zu entscheiden ist, ob überdies noch ein Altern der Zellen an sich beteiligt ist. Schließlich tritt nach längerer Zeit der Funktionstüchtigkeit, die wie bei den Holzpflanzen durch eine weitgehende Konstanz des Eiweißanteils am Gesamt-N charakterisiert ist, der Abbau in den Vordergrund; wir wissen nicht, welcher Art die Störung in dem bisher

einwandfrei arbeitenden System ist, die schließlich seinen Zusammenbruch verursacht, und wie sie unbemerkt vorbereitet wurde.

Schon aus energetischen Gründen wird man sie im Atmungsstoffwechsel suchen, scheint doch hier die Plasmastruktur gestört, für deren Erhaltung wir eine gewisse Komponente der Atmung als notwendig betrachten. Aus den geschilderten Arbeiten läßt sich über die Atmung in der letzten Phase der Blattentwicklung kaum etwas schließen. MICHAEL (1935) hemmt die Vergilbung verdunkelter *Tropaeolum*-Blätter durch Sauerstoffentzug und beschleunigt sie in reinem O_2; hier kann die Oxydation der Eiweißspaltprodukte, die auf den weiteren Eiweißabbau hemmend wirken, entscheidend sein. Bestimmungen von Kohlenhydraten, N-Fraktionen und respiratorischen Quotienten geben ein Bild vom Stoffwechsel derartiger abgeschnittener Hungerblätter: nach dem Verbrauch eines gewissen Teils der Kohlenhydrate werden Eiweißabbauprodukte als Atmungsmaterial verwendet, wobei über die Höhe der Atmungsgröße die Menge der Substrate entscheidet; dem Abfall der CO_2-Produktion im Zusammenhang mit dem Verbrauch der Kohlenhydrate kann ein Anstieg vorausgehen (YEMM 1935 für Gerste), mit dem Einsetzen der Eiweißveratmung erfolgt kein weiteres Absinken oder auch eine erneute Steigerung (KROTKOV für Weizen) vor dem endgültigen Abfall. Für den Eiweißabbau ist aber nicht nur der Kohlenhydratmangel entscheidend, da der Abbau zu Aminosäuren im Dunkeln auch bei Zuckerzufuhr durch die Blattstiele eintreten kann (CHIBNALL und SAHAI an Kohlblättern). Nach YEMM (1937) ist der Eiweißabbau verdunkelter Gerstenblätter zu Anfang, also in der „Kohlenhydratphase" am stärksten, wobei hauptsächlich Aminosäuren gebildet werden, während in der „Eiweißphase" der Atmung zugleich mit dem Gelbwerden der Amid-N bis zu einem hohen Wert steigt und in der letzten Phase, wenn der Mangel an Atmungsmaterial extrem wird, vor allem Ammoniak erscheint. Alle diese Versuche sind aber für den Verlauf des *natürlichen* Vergilbens von zweifelhaftem Wert, da dieser äußerlich ähnliche Vorgang wohl einen anderen Verlauf nimmt als der Hungerstoffwechsel abgeschnittener Blätter im Dunkeln; beispielsweise ist eine hervorragende Rolle eines Mangels an Kohlenhydraten nicht anzunehmen Hier ist noch fast alle Experimentalarbeit zu leisten und neben der quantitativen auch die qualitative Seite der Atmung zu berücksichtigen.

Von Bedeutung ist hier vielleicht die Katalase. NOACK stellt an zerriebenen gelben *Tropaeolum*- und *Cucurbita*-Blättern eine gegenüber grünen wesentlich herabgesetzte katalatische Aktivität fest. Er nimmt Aktivierung eines proteolytischen Faktors durch überschüssiges Wasserstoffperoxyd, Abbau des Eiweißes der Chloroplasten, damit Freiwerden des Chloroplasteneisens und der Chlorophyllase an. Ein Modell für

einen oxydativen Chlorophyllabbau auf dieser Grundlage läßt sich in der Oxydation chlorophyllatischer Spaltprodukte durch ein System Eisen(III)hydroxyd-H_2O_2 in vitro durchführen, wobei diese peroxydatische durch eine katalatische Wirkung ersetzt wird, wenn der Katalysator im Überschuß vorhanden ist Eine solche wohl adsorptiv bedingte Wirkungsänderung ist für die Katalase selbst aus ihrer Konstitution verständlich (vgl. OPPENHEIMER, S. 1672, 1685); andererseits drückt sich THEORELL auf Grund neuester Befunde über Katalase-Peroxydverbindungen dahin aus, daß die Katalasen stets peroxydatisch wirken und erst bei Überschuß von Wasserstoffperoxyd als Akzeptor katalatische Spaltung eintritt. Welche Rolle der Katalase auch im Stoffwechsel der grünen Pflanze zukommen mag, ihre Lokalisation im Chloroplasten (NEISH, KROSSING), ihre Reduzierung bei Chlorophylldefekten (SCHUMACHER 1929, RISCHKOW und KARATSCHEWSKI, v. EULER u. a.) und ihr zum Teil vikariierend mit Peroxydase beobachtetes Auftreten beanspruchen Interesse für das Vergilben vielleicht auch über den reinen Chlorophyllabbau hinaus, wenn sich eine Verbindung zur Proteolyse allgemein feststellen ließe. Die altersbedingten Katalaseschwankungen, die sich bisher in der Literatur finden, sind uneinheitlich. Nach RUBIN und STRATSCHITZKI sinkt die Katalaseaktivität in Kohlpflanzen nach einem Maximum im Achtblattstadium ab, während die der Peroxydase ansteigt. SMIRNOW gibt für Sonnenblumen einen Katalaseabfall parallel dem der Atmung mit dem Alter nach einem Anstieg im Jugendalter, für Tabak schwankende Peroxydasewerte an, ein ähnliches Katalasemaximum POPE (1933) bei gleichzeitiger Untersuchung der sechs obersten Blätter von Gerstenpflanzen vor der Blüte, wobei aber keine Parallelität zu der von oben nach unten abnehmenden Atmung besteht. Nach KNOTT liegt die höchste Katalaseaktivität bei Spinatblättern im mittleren Alter. Bei Untersuchung des ganzen Gerstenhalmes mit Blättern findet POPE (1932) im Laufe der Entwicklung unregelmäßige Schwankungen, die sicher zum Teil durch die von ihm wie von KNOTT und SMIRNOW benutzte Bezugsgröße (Trockengewicht) bedingt sind. Auf das Frischgewicht bezogen fällt bei RANJAN und MALLIK in *Mangifera indica* und *Eugenia jambosa* die Katalase von jüngeren zu älteren Blättern ab, erreicht aber beim Vergilben ein neues Maximum. Erst Untersuchungen auf breiterer Basis können zeigen, ob Alterserscheinungen mit einem Nachlassen der Katalaseaktivität und mit einem Wechsel von katalatischer und peroxydatischer Wirkung eventuell auf adsorptiver Grundlage verbunden sind; hier könnte vielleicht auch ein Anschluß an die neuen russischen Arbeiten gefunden werden (vgl. PAECH 1940b, DUSPIVA), nach denen die auf- und abbauende Tätigkeit pflanzlicher Hydrolasen durch ihre Adsorption in der Zelle bestimmt wird.

Die Frage nach dem Alterskomplex und seinen verschiedenen Wurzeln wird hier durch eine Vorstellung, die konkreter ist als die sonst postulierten „protoplasmatischen Faktoren" auf eine Strukturänderung zurückgeführt, welche die Umsteuerung wesentlicher Fermente bewirkt, wobei nach dem Gesagten offenbleibt, für welchen Teil der Altersvorgänge eine solche Wirkung nächstliegend und faßbar erscheint. Die bestehenden Methoden der Messung protoplasmatischer Größen erlegen der Erfassung physiko-chemischer Zustände innerhalb der Zelle als Ergänzung chemischer Analysen von vornherein große Beschränkung auf. Der Vergleich erscheint trotzdem wünschenswert, wenn wir auch nicht wissen, wie weit die bestimmten Größen den funktionell wesentlichen Strukturen entsprechen oder wesentliche Schlüsse auf sie zulassen. In einer kürzlich erschienenen ersten Mitteilung werden für die Pflanzenzelle die (im Vergleich zu den stoffwechselphysiologischen spärlichen) Arbeiten über zellphysiologische Änderungen mit dem Blattalter besprochen (vgl. auch PAECH 1940b) und einige Ergebnisse über die Zytoplasmaviskosität und den K- und Ca-Gehalt mitgeteilt (FISCHER). Es zeigt sich dabei eine Viskositätsabnahme (gemessen durch die Plasmolyseform) parallel einem fallenden Quotienten K : Ca vom jungen über das ausgewachsene zum alten Blatt. Da es möglich erscheint, daß der Viskositätsabfall eine Besonderheit der untersuchten Submersen ist, sind entsprechende Untersuchungen an anderen ökologischen Typen notwendig, die im folgenden mitgeteilt werden. Leider mußte wegen des zeitbedingten Mangels an experimentellen Möglichkeiten auf eine ergänzende Erfassung des Eiweißhaushalts verzichtet werden.

III. Methodik.

Die Untersuchungsmethoden waren die der ersten Mitteilung. Zur Viskositätsmessung diente die plasmolytische Methode, wobei durch Wahl verschiedener Plasmolytika und verschiedener Konzentrationen die störenden Wirkungen der Permeabilität und der Konzentrationsdifferenz möglichst ausgeschaltet wurde. Auf die methodische Kritik an der plasmolytischen Viskositätsbestimmung und den sich daraus für diese Arbeit ergebenden Konsequenzen wurde bereits eingegangen (FISCHER). Die Ionen wurden nach KRAMER und TISDALL bestimmt: Fällung von Kalium als Hexanitrokobaltiat und Oxydation des Niederschlags mit n/100 $KMnO_4$, Entfärbung des überschüssigen $KMnO_4$ durch n/100 Ammoniumoxalat und Rücktitration des nicht verbrauchten Oxalats durch n/100 $KMnO_4$; Fällung von Kalzium als Oxalat und Titration desselben mit n/100 $KMnO_4$.

Die Blätter wurden unmittelbar nach dem Abschneiden untersucht. Die gleichen Blätter — oder bei sehr großen Blättern die Blattstücke, aus denen die Schnitte genommen waren — wurden nach Bestimmung

des Frischgewichts auf der Torsionswaage im Trockenschrank bei etwa 100° C getrocknet und später analysiert. Beobachtet wurden im allgemeinen wegen der verhältnismäßig günstigen Bilder Epidermiszellen an groben Flächenschnitten, die durch die Vakuummethode mit der plasmolysierenden Lösung infiltriert wurden. Meist waren die Plasmolyseformen im gleichen Blatt oder Blattstück weniger einheitlich als bei den Wasserpflanzen; wie weit diesen Unterschieden primäre Viskositätsunterschiede entsprechen, ist im einzelnen schwer zu entscheiden. Daß sie nur durch ungleichmäßige Plasmolyse infolge gehemmter Diffusion bedingt waren, ist wenig wahrscheinlich, da die Unterschiede nicht in einer bestimmten Richtung fortschritten. Um die Wundwirkung möglichst auszuschalten, blieben Zellen aus der Nähe des Schnittrandes unberücksichtigt. Die in den Protokollen angegebenen Plasmolyseformen sind die überwiegend vertretenen, gelegentlich schien es richtig, zwei Formen anzugeben. Auf eine Auszählung der Zellen habe ich im Interesse schnellerer Beobachtung verzichtet.

Es wurden wieder drei Altersstufen untersucht. Die jungen Blätter waren voll entfaltet, während die ausgewachsenen ihre volle Größe dem Augenschein nach im wesentlichen erreicht hatten und die alten mehr oder weniger stark im Vergilben begriffen waren. Zur Untersuchung kam eine Reihe verschiedener Pflanzen, meist aus dem Bonner Botanischen Garten, wobei für die Auswahl vor allem entscheidend war, ob die Blätter gute Plasmolysebilder lieferten. Es sei gleich vorausgeschickt, daß eine Anzahl Pflanzen keine Altersunterschiede der Plasmolyseform zeigten; neben solchen Fällen, in denen die Plasmolyseform nicht klar war, stehen zweifellos solche, in denen Viskositätsunterschiede fehlten oder mit der angewendeten Versuchstechnik nicht erfaßt wurden. Fehlende Plasmolyseformunterschiede bedeuten noch keineswegs gleiche Zytoplasmaviskosität, während umgekehrt aus der Beobachtung solcher Differenzen mit der erforderlichen Vorsicht auf Viskositätsdifferenzen geschlossen werden kann. Objekte, bei denen die Plasmolyseform der Epidermiszellen junger und alter Blätter gleich war, sind z. B. *Phellodendron japonicum*, *Tilia ulmifolia*, *Salix alba*, *Aesulus parviflora*, vielfach auch *Sedum telephium* (vgl. Tabelle 8) und *Ranunculus Ficaria* (vgl. Tabelle 11 und 12). Bei diesen Objekten begannen die Plasmolysen meist sofort weitgehend konvex, während ich in den kurzlebigen nichtgrünen Blättern der Blütensprosse von *Petasites hybridus* gleichmäßig stark konkave Plasmolyseformen fand, ob sie frisch entfaltet waren oder „alterten".

IV. Untersuchungen an Landpflanzen.

In der Mehrzahl der Versuche findet sich die bei den Wasserpflanzen beobachtete raschere oder sofortige Abrundung der Protoplasten in den

alten Zellen wieder. So zeigen Tabelle 1 und 2 Versuche an *Hydrangea hortensis* mit verschiedenen Lösungen, aus denen der Abfall der Plasmolysezeit und des K:Ca-Verhältnisses mit dem Alter hervorgeht. Die Analysen bieten das bei Landpflanzen gewohnte Bild; der K-Gehalt bleibt hier relativ hoch, während Ca mit dem Alter stetig zunimmt. Eine weitgehendere Übereinstimmung der Einzelwerte ist bei der Analyse von Blättern, die unter ungleichen Bedingungen gewachsen sind, nicht zu erwarten.

Tabelle 1. *Hydrangea hortensis. 5. 6. 46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbend)
	0,5 m KCl.		
3 Min.	konkav, eckig	fast konvex	fast konvex
30 Min.	meist konvex	fast konvex	fast konvex
90 Min.	konvex	konvex	konvex
210 Min.	konvex	konvex	konvex
	0,5 m $Ca(NO_3)_2$.		
5 Min.	konkav, eckig	konkav, eckig	eckig
30 Min.	konkav, eckig	eckig	stark gerundet
90 Min.	konkav, eckig	weiter gerundet	konvex
210 Min.	eckig	konvex	konvex
Frischgewicht mg	583	2385	1069
Asche mg	6,9	21,1	14,8
% K in der Asche	26,2	18,3	17,4
% Ca in der Asche	11,1	22,1	32,3
K:Ca	2,35	0,83	0,54

Tabelle 2. *Hydrangea hortensis. 7. 6. 46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbt)
	0,6 m KNO_3.		
4 Min.	konkav, eckig	fast konvex	fast konvex
30 Min.	weiter gerundet	fast konvex	konvex
60 Min.	fast konvex	konvex	konvex
300 Min.	konvex	konvex	konvex
	0,45 m $Ca(NO_3)_2$.		
5 Min.	konkav, eckig	fast konvex	fast konvex
30 Min.	weiter gerundet	fast konvex	fast konvex
60 Min.	fast konvex	fast konvex	konvex
300 Min.	konvex	konvex	konvex
Frischgewicht mg	407	983	820
Asche mg	6,3	10,2	12,0
% K in der Asche	29,2	33,6	26,7
% Ca in der Asche	15,9	21,1	23,1
K:Ca	2,31	1,56	1,15

Tabelle 3. *Polygonum cuspidatum. 16.7.46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (gelb)
	0,6 m KNO_3.		
3 Min.	eckig abrundend	konvex	konvex
60 Min.	konvex	konvex	konvex
	0,45 m $Ca(NO_3)_2$.		
3 Min.	eckig	fast konvex	fast konvex
60 Min.	eckig abrundend	konvex	konvex
120 Min.	eckig abrundend	konvex	konvex
180 Min.	eckig abrundend	konvex	konvex
300 Min.	fast konvex	konvex	konvex
	0,7 m $Ca(NO_3)_2$.		
3 Min.	stark konkav	fast konvex	fast konvex
60 Min.	eckig	konvex	konvex
120 Min.	eckig abrundend	konvex	konvex
180 Min.	eckig abrundend	konvex	konvex
300 Min.	fast konvex	konvex	konvex
Frischgewicht mg (Blattstücke)	362	615	582
Asche mg	4,5	10,0	6,9
% K in der Asche	22,9	16,0	16,6
% Ca in der Asche	3,3	14,7	21,4
K:Ca	6,79	1,09	0,78

Tabelle 4. *Polygonum cuspidatum. 20.6.46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbend)
	0,6 m KNO_3.		
6 Min.	schwach konkav	konvex	konvex
20 Min.	schwach konkav	konvex	konvex
210 Min.	schwach konkav	konvex	konvex
	0,45 m $Ca(NO_3)_2$.		
6 Min.	konkav	schwach konkav	schwach konkav
20 Min.	schwächer konkav	schwach konkav	fast konvex
60 Min.	schwach konkav	schwach konkav	fast konvex
120 Min.	schwach konkav	weiter gerundet	konvex
210 Min.	schwach konkav	fast konvex	konvex
	0,7 m $Ca(NO_3)_2$.		
6 Min.	konkav	schwach konkav	fast konvex
20 Min.	schwächer konkav	schwach konkav	fast konvex
60 Min.	schwach konkav	weiter gerundet	konvex
120 Min.	schwach konkav	fast konvex	konvex
210 Min.	schwach konkav	fast konvex	konvex
Frischgewicht mg (Blattstücke)	414	508	507
Asche mg	6,3	5,5	3,9
% K in der Asche	19,1	11,9	5,9
% Ca in der Asche	3,2	17,9	26,6
K:Ca	6,02	0,66	0,22

Zahlreiche Versuche machte ich mit *Polygonum cuspidatum*, von denen einige in den Tabellen 3—5 wiedergegeben sind, sie schließen sich in ihren Ergebnissen an die *Hydrangea*-Versuche an. Das Endstadium der Plasmolyseform wird hier auch in den älteren Zellen viel schneller erreicht als in den jüngeren, der Einfluß des Kations und seiner Konzentration tritt nicht sehr deutlich hervor (Tabelle 3).

Spricht dies schon dafür, daß der Art und der Konzentration des Plasmolytikums nur untergeordnete Bedeutung für die beobachteten Differenzen zukommen, so zeigt der Vergleich der Altersstadien bei verschiedenen Konzentrationen von $Ca(NO_3)_2$ in Tabelle 3 und 4 und von Glukose in Tabelle 5 mit großer Sicherheit wirkliche Viskositätsunterschiede an. Der K- und Ca-Gehalt zeigt auch hier den sonst gefundenen Gang; der Ca-Gehalt der jungen Blätter ist sehr gering.

Tabelle 5. *Polygonum cuspidatum. 2. 7. 46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbt)
	0,5 m Glukose.		
5 Min.	konkav	schwach konkav	konvex
60 Min.	schwach konkav	konvex	konvex
300 Min.	schwach konkav	konvex	konvex
	1,0 m Glukose.		
3 Min.	konkav	schwach konkav	konvex
60 Min.	schwach konkav	weiter gerundet	konvex
120 Min.	schwach konkav	weiter gerundet	konvex
180 Min.	schwach konkav	fast konvex	konvex
240 Min.	schwach konkav	fast konvex	konvex
300 Min.	schwach konkav	konvex	konvex
Frischgewicht mg (Blattstücke) . . .	135	238	225
Asche mg	5,4	4,9	2,6
% K in der Asche . .	10,6	9,2	5,9
% Ca in der Asche .	2,0	14,0	10,8
K:Ca	5,30	0,66	0,55

Verhältnismäßig wenig wird die Plasmolyseform bei *Phaseolus vulgaris* (Stangenbohnen und Buschbohnen) durch das Blattalter beeinflußt, doch finden wir auch hier das bisher festgestellte Gefälle, ebenso bieten die Analysen keine Besonderheiten (Tabelle 6). Ein eventueller Einfluß der Blüte wurde durch Untersuchungen von Pflanzen zur Blütezeit, davor und danach festzustellen versucht, es zeigten sich aber keine wesentlichen Unterschiede.

Bei *Beta vulgaris f. rubra* (Rote Bete) runden sich nicht nur in der Blattepidermis, sondern auch in den anthocyanführenden Zellen des Blattstiels die Protoplasten der älteren Zellen schneller ab als die der jüngeren (Tabelle 7, Analysen wurden hier nicht gemacht).

Tabelle 6. *Phaseolus vulgaris (Stangenbohne, Pflanze mit Früchten). 27. 8. 46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (gelb)
	0,6 m KNO_3.		
5 min	schwach konkav	konvex	konvex
20 min	schwach eckig	konvex	konvex
170 min	schwach eckig	konvex	konvex
	0,45 m $Ca(NO_3)_2$.		
5 min	schwach konkav	schwach eckig	konvex
20 min	schwach eckig	schwach eckig	konvex
80 min	schwach eckig	konvex	konvex
170 min	schwach eckig	konvex	konvex
	0,7 m $Ca(NO_3)_2$.		
5 min	schwach eckig	schwach eckig	konvex
20 min	schwach eckig	schwach eckig	konvex
170 min	schwach eckig	schwach eckig	konvex
Frischgewicht mg	171	934	533
Asche mg	3,5	14,0	11,7
% K in der Asche	23,6	18,5	1,5
% Ca in der Asche	4,0	18,8	34,3
K:Ca	5,05	0,99	0,05

Tabelle 7. *Beta vulgaris f. rubra. 1. 8. 46. Epidermis. Plasmolyseform in 0,45 m $Ca(NO_3)_2$.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbend)
	Blattspreite.		
3 min	konkav	konkav	schwach eckig
30 min	eckig abrundend	eckig abrundend	konvex
90 min	weiter gerundet	weiter gerundet	konvex
	Blattstiel.		
3 min	konkav	eckig	eckig
30 min	eckig	eckig abrundend	meist konvex
90 min	eckig	meist konvex	konvex

Da REUTER für vergilbende Blätter von *Sedum praealtum* eine längere Plasmolysezeit in den Epidermiszellen im Vergleich zu denen grüner Blätter angibt, habe ich eine Reihe von Versuchen mit *Sedum telephium* und *S. kamtschaticum* gemacht, weil ein besonderes Verhalten der Sukkulenten durch ihren besonderen Stoffwechsel und anatomischen Bau bedingt sein könnte. Das Plasmolyseverhalten junger und alter Zellen war meist gleich, wie auch Tabelle 8 zeigt, aus der höchstens für die höhere $Ca(NO_3)_2$-Konzentration eine schwach erhöhte Viskosität in den älteren Zellen herausgelesen werden könnte; sie bleibt jedoch

unsicher, da sie nicht allgemein auftrat. Ich führe gerade diesen Versuch an, weil auch mit Harnstoff plasmolysiert wurde und sich daraus erkennen läßt, wie wenig sich Harnstoff für Viskositätsmessungen eignet. Tatsächlich ist bei Harnstoffplasmolyse — wenn auch nicht in dem Maße wie bei REUTER — die Plasmolysezeit in den vergilbenden Blättern scheinbar erhöht, aber man erkennt deutlich aus der größeren Deplasmolysegeschwindigkeit, daß nicht Viskositäts-, sondern Permeabilitätsunterschiede zugrunde liegen (BORRISS). Auch WEBER (1931) benutzt die Plasmolyse mit Harnstoff bei *Spirogyra*-Zellen verschiedener Entwicklungsstadien zur Charakterisierung der *Permeabilität*. — Die Analysendaten zeigen bei hohem Ca-Gehalt den Abfall von K:Ca mit dem Alter, ohne daß ihm eine meßbare Viskositätsänderung parallel läuft.

Tabelle 8. *Sedum telephium. 3. 9. 46. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Batt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbend)
	0,6 m KNO_3.		
5 min	fast konvex	fast konvex	fast konvex
15 min	fast konvex	fast konvex	fast konvex
45 min	fast konvex	fast konvex	fast konvex
105 min	konvex	konvex	konvex
180 min	konvex	konvex	konvex
	0,45 m $Ca(NO_3)_2$.		
4 min	schwach konkav	schwach konkav	schwach konkav
15 min	schwach konkav	schwach konkav	schwach konkav
45 min	schwach konkav	schwach konkav	schwach konkav
105 min	schwach konkav	meist konvex	schwach konkav
180 min	schwach konkav	konvex	schwach konkav
	0,7 m $Ca(NO_3)_2$.		
3 min	konkav	konkav	konkav
15 min	konkav	konkav	konkav
45 min	konkav	konkav	konkav
105 min	schwächerkonkav	schwächerkonkav	schwächerkonkav
180 min	konvex	fast konvex	fast konvex
	1,0 m Harnstoff.		
5 min	konkav	konkav	konkav
15 min	meist konvex, Deplasmolyse hat eingesetzt	meist konvex, Deplasmolyse hat eingesetzt	konkav, abrundend
45 min	meist deplasmolysiert	meist deplasmolysiert	fast konvex 50% deplasmolysiert
65 min	alle deplasmolysiert	alle deplasmolysiert	fast konvex, 70% deplasmolysiert
Frischgewicht mg	932	1665	1115
Asche mg	6,3	25,9	7,0
% K in der Asche	16,9	13,5	7,8
% Ca in der Asche	29,1	34,2	51,6
K:Ca	0,58	0,39	0,15

Trotz gewisser Bedenken (vgl. RICHARDS 1934) wurde der Altersvergleich an krautigen Pflanzen gleichzeitig an Blättern verschiedener Insertionshöhe durchgeführt, schon weil keine Möglichkeit zur Anzucht eines zu verschiedener Zeit vergleichbaren Untersuchungsmaterials bestand. Nach den Beobachtungen ist aber anzunehmen, daß die schnellere Abrundung in älteren Zellen auch für das Altern des Einzelblattes gilt. Zur Ergänzung dieser Ergebnisse und wegen des andersartigen Entwicklungsablaufs überhaupt wurden Blätter laubwerfender Bäume im Verlauf der Vegetationsperiode untersucht, wovon im folgenden zwei Beispiele wiedergegeben werden.

Es wurden vom gleichen Ast zu verschiedenen Zeitpunkten Blätter entnommen, Epidermisschnitte in der angegebenen Weise untersucht und die Blätter analysiert. Wie schon erwähnt, ließen sich gerade bei Bäumen vielfach keine altersbedingten Viskositätsunterschiede messen, die Plasmolyseformen waren in solchen Fällen stets konvex, auch in ganz jungen und schon völlig gelben Blättern. Doch zeigten sich bei verschiedenen Bäumen mehr oder weniger starke Veränderungen der Plasmolysezeit bei Ausdehnung der Versuche über den ganzen Sommer, die den bei krautigen Pflanzen entsprechen. Tabelle 9 gibt die Ergebnisse einer solchen Versuchsreihe für *Ginkgo* wieder; während bei KNO_3-Plasmolyse nur geringe Altersunterschiede hervortreten, wird in $Ca(NO_3)_2$ die Plasmolysezeit mit dem Alter allmählich kürzer, die sofortige Konvexplasmolyse tritt im September in grünen ebenso wie in gelben Blättern ein. Der K-Gehalt und der Wert K:Ca, die beide vom Frühjahr zum Herbst stetig abfallen, haben am 11. 9. 46 ihren niedrigsten Wert unabhängig vom Chlorophyllgehalt des untersuchten Blattes, während der Aschegehalt der schon gelben Blätter vergleichsweise gering ist.

Ein Exemplar von *Quercus pedunculata*, bei welchem sich schon in dem relativ feuchten Sommer 1946 die gleichen Verhältnisse wie beim *Ginkgo* gezeigt hatten, wurde in dem extrem heißen und trockenen Sommer 1947 genauer untersucht (Tabelle 10). Das Ergebnis entspricht dem bei *Ginkgo*, indem nur die Plasmolysen mit $Ca(NO_3)_2$ nennenswerte Formunterschiede zeigen, wobei die sofortige Konvexplasmolyse erst in den völlig gelben Blättern erreicht wird (14. 10. und 29. 10. 47), während gleichzeitig in den grünen Blättern noch mehr oder weniger eckige Plasmolyseformen auftreten. Das Auftreten der Plasmolyseformunterschiede bei verschiedenen Konzentrationen und relativ starker Hypertonie spricht hier wie bei *Ginkgo* gegen ihre Bedingtheit durch verschiedene Grade der Hypertonie. Ich habe stark hypertonische Lösungen gewählt, um jederzeit eine zuverlässige Plasmolyse zu bekommen. Die Probenahme erfolgte wie auch bei *Ginkgo* stets in den Morgenstunden, obwohl sich bestimmte Tagesschwankungen der

Tabelle 9. *Ginkgo biloba. 1946. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	20. 4. sehr jung	27. 6.	16. 7.	27. 8.	11. 9. grün	11. 9. etwas gelb	11. 9. gelb
			1,0 m KNO_3.				
4 min	eckig	eckig	eckig abrundend	eckig abrundend	konvex	konvex	konvex
10 min	eckig	eckig abrundend	konvex	konvex	konvex	konvex	konvex
40 min	eckig	konvex	konvex	—	—	—	—
70 min	eckig	—	—	—	—	—	—
100 min	eckig abrundend	—	—	—	—	—	—
160 min	fast konvex	—	—	—	—	—	—
300 min	konvex	—	—	—	—	—	—
			0,7 m $Ca(NO_3)_2$.				
4 min	konkav	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig	konvex	konvex	konvex
10 min	konkav	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend	—	—	—
40 min	eckig	weiter gerundet	weiter gerundet	weiter gerundet	—	—	—
70 min	eckig abrundend	weiter gerundet	weiter gerundet	weiter gerundet	—	—	—
100 min	weiter gerundet	konvex	fast konvex	weiter gerundet	—	—	—
160 min	fast konvex	konvex	konvex	konvex	—	—	—
300 min	fast konvex	konvex	konvex	konvex	—	—	—
			1,0 m $Ca(NO_3)_2$.				
4 min	konkav	eckig	eckig	eckig	konvex	konvex	konvex
10 min	konkav	eckig	eckig abrundend	eckig	konvex	konvex	konvex
40 min	konkav (tot ?)	eckig	eckig abrundend	eckig	konvex	konvex	konvex
70 min	(tot)	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig	—	—	—
100 min	—	weiter gerundet	weiter gerundet	eckig abrundend	—	—	—
160 min	—	fast konvex	konvex	konvex	—	—	—
300 min	—	konvex	konvex	konvex	—	—	—
Frischgewicht mg		460	499	852	794	372	410
Asche mg		6,5	10,4	20,8	23,8	8,1	7,6
% K in der Asche		20,0	13,7	9,5	6,9	5,0	7,8
% Ca in der Asche		25,2	24,4	34,4	42,8	37,6	45,3
K:Ca		0,79	0,56	0,28	0,16	0,14	0,17

Tabelle 10. *Quercus pedunculata. 1947. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	27. 5.	16. 7.	10. 9.	14. 10. gelb	29. 10. grün	29. 10. gelb
			1,0 m KNO_3.			
6 min	schwach eckig	schwach eckig	konvex	konvex	konvex	konvex
30 min	fast konvex	konvex	konvex	konvex	konvex	konvex
60 min	konvex	konvex	konvex	konvex	konvex	konvex
			0,7 m $Ca(NO_3)_2$.			
6 min	eckig	eckig	eckig abrundend	konvex	schwach eckig	konvex
30 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend	konvex	eckig abrundend	konvex
60 min	weiter gerundet	eckig abrundend	eckig abrundend	konvex	eckig abrundend	konvex
120 min	weiter gerundet	eckig abrundend	weiter gerundet	konvex	konvex	konvex
180 min	noch deutlich eckig	fast konvex	fast konvex	—	—	—
300 Min.	noch deutlich eckig	konvex	konvex	—	—	—
			1,0 m $Ca(NO_3)_2$.			
6 min	eckig	eckig	eckig	fast konvex	schwach eckig	konvex
30 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend	konvex	schwach eckig	konvex
60 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend	konvex	weiter gerundet	konvex
120 min	weiter gerundet	weiter gerundet	weiter gerundet	konvex	weiter gerundet	konvex
180 min	weiter gerundet	weiter gerundet	fast konvex	konvex	fast konvex	konvex
300 min	noch deutlich eckig	konvex	konvex	konvex	fast konvex	konvex

Frischgewicht mg	442	498			347	285	141	172	351	402	153	106
Asche mg	8,2	7,7			9,5	7,3	6,5	9,9	11,0	14,3	6,3	4,7
% K in der Asche	13,7	16,1			8,4	7,6	4,3	2,7	7,1	8,0	5,4	6,7
% Ca in der Asche	20,8	24,4			23,2	26,2	22,9	20,2	19,8	24,6	29,9	26,4
K:Ca	0,65	0,66			0,34	0,28	0,19	0,14	0,36	0,32	0,19	0,24

Plasmolyseform nicht feststellen ließen. Stichproben an Tagen zwischen den in der Tabelle angeführten ergaben keine grundsätzlichen Abweichungen. Die Veränderung mit dem Alter ist hier noch stetiger als bei *Ginkgo*, eine Einwirkung der jeweiligen Außenbedingungen nicht zu bemerken. Ob sich ein jahreszeitlicher Effekt neben dem eigentlichen „Altern" bemerkbar macht, ist nicht zu sagen, da sich beide Wirkungen bei unseren Bäumen überhaupt nicht trennen lassen.

Um individuelle Schwankungen zu erfassen, wurden stets zwei nebeneinanderstehende Blätter untersucht; die Unterschiede in der Plasmolyseform waren zwischen den Durchschnittswerten beider Schnitte geringer als zwischen den Einzelzellen jedes Schnittes, die Unterschiede im K- und Ca-Gehalt gibt Tabelle 10 wieder. Bei fast konstantem Ca-Gehalt sinkt der K-Gehalt der Eichenblätter im Laufe des Sommers ab, die niedrigsten Werte für K:Ca haben die gelben Blätter, die auch die schnellste Abrundung der Protoplasten zeigen. Die gelben Blätter haben hier auch deutlich den niedrigsten Gehalt an K in der Asche, während in Tabelle 9 die K-Abnahme keine Beziehung zur Blattfarbe zeigt. Ein Zusammenhang ist auch nicht zu erwarten (vgl. Abschnitt II).

In den bisher mitgeteilten Versuchen waren nur Epidermiszellen untersucht worden, die als Bestandteile eines Abschlußgewebes eine Sonderstellung im Blatt einnehmen und in die beherrschenden Stoffwechselvorgänge des Blattes mehr mittelbar eingreifen. Es erschien möglich, daß sie in ihrem Plasmolyseverhalten von den Mesophyllzellen abwichen, obwohl sich bei Wasserpflanzen ähnliche Altersverschiebungen wie bei den Epidermiszellen gezeigt hatten. Da ferner die Analysendaten im wesentlichen durch das quantitativ überwiegende Mesophyll bestimmt sind, sollten an einem geeigneten Objekt Epidermis und Mesophyll verglichen werden.

Zur Messung der Plasmolyseform eignet sich gut das Schwammparenchym von *Ranunculus Ficaria* (WEBER 1929), das Palisadengewebe ist weniger brauchbar. Die Pflanze steht im Frühjahr im Bonner Botanischen Garten reichlich zur Verfügung. Ganze Blätter wurden unmittelbar nach dem Abschneiden durch Infiltration des Plasmolytikums plasmolysiert. Die Infiltration erfolgte leicht und vollständig, die Blätter wurden schön durchsichtig und ließen die Plasmolyseform in den Zellen des Schwammparenchyms sehr gut erkennen. Die Umrisse des Protoplasten zeigten immer eine Anlehnung an die Zellform; auch bei den als „konvex" bezeichneten Plasmolysen hatten sich die Protoplasten nicht völlig abgekugelt, sondern eine wellige, den Zellumrissen entsprechende Oberfläche ausgebildet. Da die ganzen Blätter zur Plasmolyse infiltriert wurden, mußten zur chemischen Analyse Blätter (eins oder mehrere) vom gleichen Stengel verwendet

Tabelle 11. *Ranunculus Ficaria. 12. 5. 47.*

Alle Blätter zeigen schon nach 5 min bei Plasmolyse mit 2,0 m Glukose, 1,0 m KNO_3 oder 0,7 m $Ca(NO_3)_2$ in Epidermis und Schwammparenchym nur Konvexplasmolyse.

	Grüne Blätter	Gelbliche Blätter	Gelbe Blätter
Frischgewicht mg . .	153 + 86 = 239	83 + 87 = 170	68 + 66 = 156
Asche mg	2,6	2,1	3,4
% K in der Asche . .	18,8	25,6	17,6
% Ca in der Asche .	8,9	10,2	21,5
K:Ca	2,12	2,51	0,82

werden, die nach Größe und Aussehen im gleichen Entwicklungsstadium zu stehen schienen.

In den meisten Versuchen trat unabhängig von der Art der plasmolysierenden Lösung (KNO_3, $Ca(NO_3)_2$, Glukose) in Epidermis und Schwammparenchym sofort Konvexplasmolyse ein, ohne daß dabei ein Altersunterschied erkennbar wurde; Beispiele hierfür geben die Tabellen 11 und 12. Die Untersuchungen erstreckten sich über die ganze Entwicklungszeit der oberirdischen Pflanze im Frühjahr. Es waren daher in der ersten Aprilhälfte noch keine gealterten Blätter, in der zweiten Maihälfte keine ganz jungen mehr vorhanden. Ein eventuell vorhandener Einfluß des Gesamtalters der Pflanze könnte hier besonders zur Wirkung kommen.

Tabelle 12. *Ranunculus Ficaria. 24. 5. 47.*

Alle Blätter zeigen schon nach 5 min bei Plasmolyse mit 0,7 m $Ca(NO_3)_2$ in Epidermis von Blattoberseite und -unterseite Konvexplasmolyse. Hechtsche Fäden, die überall schwach ausgebildet sind, werden innerhalb einer halben Stunde eingezogen.

	Grünes Blatt	Gelbliches Blatt	Gelbes Blatt
Frischgewicht mg . .	139	154	97
Asche mg	2,0	2,8	1,7
% K in der Asche . .	18,2	23,2	9,9
% Ca in der Asche .	10,0	10,0	16,3
K:Ca	1,82	2,32	0,60

In zwei Versuchen, deren einen Tabelle 13 wiedergibt, begann die Plasmolyse eckig, ohne innerhalb $2^1/_2$ Stunden das Konvexstadium völlig zu erreichen; auch hier bestehen keine deutlichen Unterschiede zwischen jungem und älterem Blatt einer noch jungen Pflanze. Schwammparenchym und Epidermen verhalten sich gleich. Die Gründe, weshalb hier an Stelle der sonst beobachteten konvexen konkave und eckige Plasmolyseformen auftraten, sind nicht klar. Die besonders frühe Jahreszeit oder das Jugendstadium der Pflanze sind nicht dafür verantwortlich, weil aus denselben Tagen Versuche an *Ranunculus Ficaria* mit Konvexplasmo-

lysen vorliegen; auch Beziehungen zum Wetter und zur Tageszeit lassen sich aus meinen Aufzeichnungen nicht erschließen. TAKAMINE weist besonders auf die methodische Bedeutung von Milieufaktoren für die Plasmolyseform hin und findet bei der Zwiebelschuppenepidermis mehr konvexe Formen im Licht, dagegen mißt WEBER (1929) am Schwammparenchym von *Ranunculus Ficaria* im Dunkeln eine Plasmolysezeit von 0, in starkem Licht eine sehr große oder unendliche. Damit stimmen meine Versuche insofern überein, als die konkaven Plasmolyseformen an sonnigen Tagen beobachtet wurden, ihnen stehen aber andere Versuchsprotokolle entgegen, nach denen auch an Sonnentagen nur konvexe Formen auftraten. Im ganzen sind die Unter-

Tabelle 13. *Ranunculus Ficaria. 12. 4. 47. Plasmolyseform in* $Ca(NO_3)_2$.

Zeit nach Einlegen	Junge Blätter		Ausgewachsene Blätter	
	0,7 m	1,0 m	0,7 m	1,0 m
	Obere Epidermis.			
5 min	eckig	konkav	erste Abhebung	konkav
20 min	eckig abrundend	eckig	eckig abrundend	eckig
35 min	eckig abrundend	eckig	eckig abrundend	eckig
65 min	eckig abrundend	eckig	eckig abrundend	eckig abrundend
95 min	eckig abrundend	eckig	eckig abrundend	eckig abrundend
155 min	eckig abrundend	eckig	eckig abrundend	eckig abrundend
	Schwammparenchym.			
5 min	Abhebung beginnt	Abhebung beginnt	eckig	eckig
20 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig	eckig
35 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig	eckig
65 min	fast konvex	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig
95 min	fast konvex	fast konvex	eckig abrundend	eckig
155 min	konvex	konvex	eckig abrundend	eckig
Frischgewicht mg	24 + 25 + 32 = 81		106 + 187 = 293	
Asche mg	1,1		2,9	
% K in der Asche	33,9		21,6	
% Ca in der Asche	10,9		7,2	
K:Ca	2,85		2,72	

Tabelle 14. *Ranunculus Ficaria. 8. 5. 47. Plasmolyseform in 0,7 m $Ca(NO_3)_2$.*

Zeit nach Einlegen	Grünes Blatt	Gelbgrünes Blatt	Gelbes Blatt
	Untere Epidermis.		
5 min	fast konvex	schwach eckig	eckig abrundend
25 min	konvex	fast konvex	eckig abrundend
80 min	konvex	fast konvex	eckig abrundend
	Schwammparenchym.		
5 min	Plasmolyse beginnt mit ersten Abhebungen		
25 min	konvex	konvex	konvex und eckig
80 min	konvex	konvex	konvex und eckig
Frischgewicht mg	133	148	104
Asche mg	2,6	1,8	0,9
% K in der Asche	14,0	17,3	13,2
% Ca in der Asche	10,4	11,6	17,7
K:Ca	1,35	1,49	0,74

schiede wesentlich geringer als unter den extremen Versuchsbedingungen WEBERS[1].

Ranunculus Ficaria überraschte weiter dadurch, daß es als einziges meiner Versuchsobjekte in einigen Fällen undeutlich, in wiederum zwei Fällen deutlicher von der sonst beobachteten Regel der mit dem Alter sinkenden Plasmolysezeit abwich. Diese Ausnahmen sind, obwohl sie innerhalb einer großen Zahl von Versuchen mit dieser Pflanze vereinzelt dastehen, in Tabelle 14 und 15 dargestellt, weil sie zugleich die einzigen deutlichen Altersunterschiede bei *Ranunculus Ficaria* bringen. Die Unterschiede sind in der Epidermis am stärksten und nach Tabelle 15 offenbar nicht konzentrationsbedingt. Auch die Ausbildung HECHTscher Fäden war in den Zellen der älteren Blätter stärker, während in den übrigen Versuchen die Fadenbildung ziemlich schwach und ohne Beziehungen zum Alter war; dies gilt wieder von Epidermis und Schwammparenchym. Erwähnt sei noch, daß in einigen wenigen Fällen die Epidermis der Blattoberseite eine etwas längere Plasmolysezeit hatte als die der Unterseite, so daß man auch hier an eine Lichtwirkung im Sinne WEBERS denken könnte.

In den Analysen fällt vor allem der hohe K-Gehalt der Asche auf, der oft bis zum mittleren Blattalter steigt, während der Anstieg des Ca-Gehalts relativ gering ist.

[1] Neuerdings hat STÅLFELT die Lichtwirkung auf die Zytoplasmaviskosität von *Helodea densa* untersucht und dabei komplizierte Photoreaktionen gefunden, deren Art und Größe von der Lichtintensität abhängt und aus deren Dauer geschlossen werden muß, daß Pflanzen unter natürlichen Bedingungen auch nachts unter dem Einfluß des Tageslichtes stehen. Da schon eine Belichtung von 15 Sek. mit nur 100 Lux einen Viskositätsabfall und anschließenden Anstieg hervorruft, ist es praktisch unmöglich, bei der mikroskopischen Untersuchung die Lichtwirkung auszuschalten.

Tabelle 15. *Ranunculus Ficaria. 3. 5. 47. Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Ausgewachsenes Blatt (grün)	Altes Blatt (gelb)
	Untere Epidermis 0,7 m $Ca(NO_3)_2$.	
5 min	eckig	konkav
15 min	eckig abrundend	konkav, eckig und konvex
45 min	eckig abrundend	konkav, eckig und konvex
200 min	konvex	meist konvex
	Obere Epidermis 0,7 m $Ca(NO_3)_2$.	
5 min	eckig	konkav
15 min	eckig abrundend	konkav, eckig und konvex
45 min	fast konvex	eckig und konvex
200 min	fast konvex	konvex und fast konvex
	Untere Epidermis 0,45 m $Ca(NO_3)_2$ (schwache Plasmolyse).	
5 min	eckig	eckig
20 min	fast konvex	eckig abrundend
40 min	konvex	eckig abrundend
235 min	konvex	fast konvex
	Obere Epidermis 0,45 m $Ca(NO_3)_2$ (schwache Plasmolyse).	
5 min	eckig abrundend	eckig
20 min	fast konvex	eckig
40 min	konvex	eckig abrundend
235 min	konvex	fast konvex
	Schwammparenchym 0,7 m $Ca(NO_3)_2$.	
5 min	konvex	konvex
20 min	konvex	konvex
	Schwammparenchym 0,45 m $Ca(NO_3)_2$ (schwache Plasmolyse).	
5 min	erste Abhebungen	erste Abhebungen
20 min	konvex	konvex
Frischgewicht mg	128 + 88 = 216	75 + 71 = 146
Asche mg	2,6	2,6
% K in der Asche	26,8	17,3
% Ca in der Asche	13,5	19,3
K:Ca	1,98	0,90

Die Versuche an *Ranunculus Ficaria* zeigen, daß sich Epidermis und Schwammparenchym in der Plasmolyseform nicht wesentlich unterscheiden, im ganzen neigt das Schwammparenchym mehr zu runden Formen (besonders in Tabelle 15). Dafür läßt diese methodisch günstige Pflanze die sonst gefundene Beziehung der Plasmoyseform zum Blattalter vermissen; die wenigen Ergebnisse, die auf eine erhöhte Zytoplasmaviskosität hinweisen, stehen vereinzelt da und ließen sich nicht reproduzieren. Es darf angenommen werden, daß hier ein anderer Faktor die sonst beobachteten Verhältnisse scheinbar umkehrt, indem er den Altersfaktor überlagert; die Lebensweise der dem Boden anliegenden Pflanze kann die Blätter desselben Stengels unter sehr ungleiche Standortsbedingungen vor allem hinsichtlich des Lichts bringen,

so daß die Außenfaktoren stärker gegenüber den inneren Bedingungen in Erscheinung treten können. Die Versuche der Tabelle 13 deuten darauf hin, daß *Ranunculus Ficaria* verhältnismäßig stark auf derartige Faktoren reagiert, während sich z. B. bei *Ginkgo* und *Quercus* der Alterseffekt auch unter wechselnden Außenbedingungen durchsetzt.

V. Untersuchungen an Schwimmpflanzen.

Als Vertreter eines ganz anderen ökologischen Typs wurden die „Blätter" von *Lemna minor* herangezogen. Schon eine flüchtige Betrachtung zeigt Altersunterschiede zwischen den einzelnen Blättchen der gleichen Pflanze; neben jungen kleinen und größeren erwachsenen Blättern finden sich solche, die vergilben. Das Objekt reizt wegen seines massenhaften Auftretens und der Möglichkeit, es auf Nährlösungen zu kultivieren, besonders zur Untersuchung.

Die Erwartung, daß sich die Blätter besonders gut in unverletztem Zustand untersuchen lassen würden, wurde enttäuscht, da sie oft nur nach mehrfachem Evakuieren infiltriert werden konnten. Ich habe daher vorwiegend Blattstücke verwendet, wodurch eine leichtere Infiltration und Plasmolyse erreicht wurde. Das Material stammte aus dem Freiland.

Vor allem untersuchte ich die Epidermiszellen der Blattoberseite, da sich die der Unterseite auffallend schwer plasmolysieren ließen; das innere Blattgewebe wurde, soweit möglich, ebenfalls beobachtet.

Tabelle 16. *Lemna minor. 28. 5. 47. Obere Epidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junge Blätter	Ausgewachsene Blätter	Alte Blätter (gelb)
	0,5 m $Ca(NO_3)_2$.		
5 min	konkav	konkav und konvex	konvex
20 min	konkav	konkav und konvex	konvex
60 min	konkav, auch konvex	mehr konvex	konvex
120 min	konkav, auch konvex	viele konvex	konvex
	0,65 m $Ca(NO_3)_2$.		
5 min	konkav	konkav	konvex
20 min	konkav	konkav	konvex
60 min	konkav, wenige konvex	konkav, auch konvex	konvex
120 min	konkav, mehr konvex	konkav, auch konvex	konvex
	0,75 m KNO_3.		
5 min	konkav	konkav, auch konvex	konvex
20 min	konkav, auch konvex	konkav, auch konvex	konvex
60 min	konkav, mehr konvex	konkav, mehr konvex	konvex
120 min	weiter abgerundet	viele konvex	konvex
	1,0 m KNO_3.		
5 min	konkav	konkav, auch konvex	konvex
20 min	konkav, wenige konvex	konkav, auch konvex	konvex
60 min	weiter abgerundet	konkav, mehr konvex	konvex
120 min	konkav, viele konvex	viele konvex	konvex

Die Ergebnisse aus zahlreichen Versuchen vom Frühjahr bis zum Herbst lassen sich kurz zusammenfassen: die Zellen der gelben Blätter plasmolysierten mit 0,45 m und 0,7 m $Ca(NO_3)_2$, 0,75 m und 1,0 m KNO_3 überwiegend von Anfang an mit schön abgerundeten Formen, während die jungen und ausgewachsenen grünen Blätter allmähliche Abrundung der zunächst mehr oder weniger konkaven Protoplasten zeigten. Dieser Altersunterschied war besonders bei Plasmolyse mit $Ca(NO_3)_2$ deutlich, mit KNO_3 verwischte er sich etwas (Tabelle 16 und 17).

Interessant ist das Verhalten von Zellen in der vergilbenden Umgebung nekrotischer Stellen in sonst grünen Blättern: sie begannen im Gegensatz zu den umliegenden Zellen des grünen Gewebes mit Konvexplasmolyse. In einzelnen Fällen fanden sich unmittelbar an den nekrotischen Stellen wieder konkave und krampfige Formen mit starker Fadenbildung.

Das schlechter zu beobachtende innere Blattgewebe folgte in seinem Plasmolyseverhalten der Epidermis, auch hier rundeten sich die Protoplasten in den jüngeren Zellen langsamer als in den alten. Vielfach

Tabelle 17. *Lemna minor. 3. 10. 47. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junge Blätter	Ausgewachsene Blätter	Alte Blätter (gelb)
	0,5 m $Ca(NO_3)_2$.		
3 min	erste Abhebung	konkav, eckig	eckig abrundend
15 min	konkav	konkav, eckig	konvex
30 min	konkav, eckig	wenige konkav, eckig abrundend	konvex
60 min	konkav, eckig	eckig abrundend	konvex
120 min	konkav, eckig	weiter abgerundet	konvex
	0,66 m $Ca(NO_3)_2$.		
3 min	beginnt konkav	konkav	eckig abrundend
15 min	konkav	konkav	meist konvex
30 min	konkav	konkav	konvex
60 min	konkav	konkav	konvex
120 min	konkav	konkav	konvex
	0,75 m KNO_3.		
3 min	beginnt konkav	beginnt konkav	fast konvex
15 min	konkav, eckig	eckig abrundend	konvex
30 min	eckig	konvex	konvex
60 min	eckig abrundend	konvex	konvex
120 min	viele konvex	konvex	konvex
	1,0 m KNO_3.		
3 min	konkav	konkav	fast konvex
15 min	konkav	konkav	konvex
30 min	konkav, eckig	konkav, eckig	konvex
60 min	eckig	eckig	konvex
120 min	eckig	eckig abrundend	konvex

ließen sich in den jüngeren Zellen und nur in diesen sehr kräftige Plasmafäden beobachten, die den Eindruck der mit dem Alter abnehmenden Viskosität unterstreichen.

Zur chemischen Analyse von *Lemna* wurden zu jedem Versuch mehrere Hundert Blättchen der drei Altersstufen nach dem Augenschein aus einer größeren Menge Pflanzen ausgezählt und die Wurzeln entfernt. Das so gewonnene Material wurde bei 100° C getrocknet, nach Bestimmung des Trockengewichts verascht und analysiert. Tabelle 18 gibt einen derartigen Versuch wieder, aus dem eine grundsätzliche Übereinstimmung mit den Verhältnissen bei anderen Pflanzen

Tabelle 18. *Lemna minor. 2. 10. 47.*

	Junge Blätter	Ausgewachsene Blätter	Vergilbende Blätter
Trockengewicht (600 Blätter) mg .	19,1	40,2	37,5
Asche (600 Blätter) mg.	2,8	4,8	5,8
K (600 Blätter) mg	0,652	0,497	0,571
Ca (600 Blätter) mg	0,535	1,010	1,305
% K in der Asche	23,2	10,4	9,8
% Ca in der Asche	19,1	21,0	22,4
K:Ca.	1,22	0,49	0,44

— mit dem Alter abnehmender K- und zunehmender Ca-Gehalt — hervorgeht. Andere Versuche hatten ein ähnliches Ergebnis, quantitativ bestehen auch hier naturgemäß Unterschiede zwischen verschiedenen Probenahmen, besonders der Ca-Gehalt kann in den an Oxalatraphiden reichen Blättchen noch höher sein. Ob auch hier K in die jüngeren Blätter transportiert wird oder lediglich eine im Vergleich zu Ca geringere K-Aufnahme der älteren Blätter vorliegt, ist nicht zu entscheiden, wenn auch die Analyse mehr für die zweite Möglichkeit spricht; an eine Salzabgabe neben einer -aufnahme muß auch bei *Lemna*, bei welcher der Stoffaustausch durch die ganze Blattunterseite erfolgt, wie bei submersen Pflanzen gedacht werden. Da sie mit diesen wie mit den Landpflanzen im Plasmolyseverhalten sowie K- und Ca-Gehalt grundsätzlich die gleichen altersbedingten Veränderungen zeigt, darf man diese als allgemeine Kennzeichen des Alterns der Blätter bezeichnen.

Da sich *Lemna* leicht in Nährlösungen züchten läßt, bin ich in einigen Versuchen, die als Orientierung gedacht waren, der Frage der Beeinflussung der Plasmolyseform durch Mineralsalzmangel nachgegangen. Es interessierte dabei im Rahmen dieser Arbeit vor allem der Zusammenhang zwischen Salzmangel und Altern, wie er bei höheren Pflanzen als Nachlassen der Funktionstüchtigkeit bei vielen Mangelerscheinungen beschrieben wurde; es war zu prüfen, ob die bisher

beobachteten Beziehungen zwischen Plasmolyseform und Altern auch unter Mangelbedingungen bestehen bleiben. Es könnten Zusammenhänge zwischen Plasmolyseform, Altern und Mineralsalzgehalt erschlossen werden, wenn sich diese gemeinsam variieren ließen.

Leider gestatteten die derzeitigen Arbeitsmöglichkeiten, die vor allem eine Kultur unter sterilen und kontrollierten Bedingungen verboten, nur eine sehr primitive Versuchsanstellung, so daß die zuletzt genannten Zusammenhänge nicht geprüft werden konnten. *Lemna minor* wurde in Batteriegläsern von 1 Liter Inhalt im Gewächshaus oder an einem Nordwestfenster im Institut angezogen. Die Gläser waren zur Hemmung der Algenentwicklung mit schwarzem Papier bis zur Höhe des Wasserspiegels verdunkelt. Die Pflanzen wurden auf der Lösung nach WHITE kultiviert, wobei der K-Gehalt wie folgt gestaffelt wurde: $^1/_1$ K (0,668 g/l), $^1/_2$ K, $^1/_{10}$ K, ohne K. Die Lösung wurde etwa wöchentlich erneuert. Im allgemeinen wurde jede Kultur mit 25 Pflanzen begonnen, die sich rasch vermehrten. Im Laufe der 4—7 Wochen dauernden Kultur zeigte sich die Wirkung der gestaffelten K-Gabe; Zahl und Größe der Blätter nahmen mit dem K-Gehalt der Lösung ab. Die Mangelkulturen erschienen gelblicher als die Pflanzen auf voller Nährlösung, weil einmal alle, auch die jüngeren Blätter weniger grün waren, daneben aber in den Mangelkulturen eine größere Zahl von vergilbten Blättern vorhanden war. Der K-Mangel äußert sich also, wie wir es auch von Landpflanzen gewöhnt sind, in einem vorzeitigen Altern der Blätter. Die Wirkung des K-Mangels erfolgt nun offenbar über dieses Altern auf die Plasmolyseform, die Zellen der vergilbenden und gelben Blätter zeigten rasche oder sofortige Abrundung der Protoplasten in der Epidermis und im Assimilationsgewebe, während die grünen Zellen Konkavplasmolysen und langsamere Abrundung wie in Tabelle 16 und 17 aufwiesen. Die Möglichkeit, einen spezifischen K-Effekt über das vorzeitige Altern hinaus bei anderen Versuchsbedingungen zellphysiologisch nachzuweisen, bleibt aber offen.

Einige Versuche konnte ich auch mit *Spirodela polyrhiza* machen. Das Material stammte aus einem Bach in der Nähe von Kempen am Niederrhein und wurde in einem Aquarium im Gewächshaus kultiviert. Auch bei dieser Pflanze traten in den Zellen alter Blätter überwiegend Konvexplasmolysen auf, während sie in den jüngeren vielfach stundenlang konkav blieben [0,7 m $Ca(NO_3)_2$ und 1,0 m KNO_3]. Es ließen sich auch die Zellen der unteren Epidermis gut plasmolysieren, viele zeigten wegen ihres Anthocyangehaltes besonders schöne Bilder. Im ganzen waren die Altersunterschiede der Plasmolyseform noch ausgesprochener als bei *Lemna minor*.

Es lag nahe, auch die zur Plasmolyse sehr geeigneten *Lemna*-Wurzeln zu untersuchen; STRUGGER stellte in ihrer Streckungszone eine relativ

lange Plasmolysezeit fest, die zur Basis hin gegen 0 abnahm. In Versuchen, zu denen ich nach vorsichtigem Abstreifen der Wurzelkappe die Wurzeln in verschiedene Konzentrationen von $Ca(NO_3)_2$ und KNO_3 einlegte, fand ich den gleichen basipetalen Gradienten wie STRUGGER: die Plasmolyse der spitzennahen Zellen begann mehr oder weniger konkav, während zur Basis hin die Abrundung zunehmend schneller erfolgte oder sofort eintrat. Hierbei sprachen Art und Konzentration des Plasmolytikums in der Weise mit, wie sie vielfach und auch in dieser Arbeit bei anderen Objekten beobachtet wurde, indem K^+ und niedere Konzentration gegenüber Ca^{++} und höherer Konzentration die Abrundung beschleunigte; die Unterschiede in der Plasmolyseform auch benachbarter Zellen der Außenrinde, die vor allem beobachtet wurde, waren relativ groß. Das Altern der Blätter spielte insofern eine Rolle, als in älteren Wurzeln der Gradient steiler war und sich über einen kürzeren Abschnitt der Wurzel erstreckte als in jüngeren, bei denen die Konkavplasmolyse noch in etwas größerer Entfernung von der Spitze auftrat. Die höhere Plasmaviskosität scheint, wie auch STRUGGER angibt, auf die sich streckenden Zellen beschränkt zu sein; dagegen rundeten sich in den jüngsten meristematischen Zellen der Spitze die Protoplasten relativ schnell ab. In den ältesten Wurzeln, in denen das Wachstum beendet ist, und die oft schon makroskopisch durch das Fehlen der Wurzelkappe auffallen, trat fast nur Konvexplasmolyse ein.

Die Untersuchung der Wurzeln der Mangelreihen brachte ebensowenig wie die der Blätter ausgesprochene Mangeleffekte; lediglich bei $^1/_{10}$ K und ohne K trat eine größere Zahl „alter" Wurzeln auf. Mit dem vorzeitigen Erlöschen des Wachstums wird auch das Auftreten von Konvexplasmolysen beschleunigt, die Wirkung ist also ähnlich wie bei den Blättern. Zum Unterschied von den Blättern sind aber in den Wurzeln die Konkavplasmolysen weitgehend auf die Streckungszone beschränkt, so daß ein Zusammenhang mit der Zellstreckung selbst, wie ihn STRUGGER annimmt, möglich ist (mit verdeckten Viskositätsunterschieden bei älteren Zellen ist aber zu rechnen). Bei den Blättern dagegen geht die konkave Plasmolyseform mit dem Alter allmählich in die konvexe über. Wegen vielleicht vorhandener K-Mangelwirkungen in den Wurzeln gilt das für die Blätter Gesagte.

Abschließend sollen noch einige Versuche an *Trianaea bogotensis* mitgeteilt werden. Die Pflanzen wurden in einem Becken im Gewächshaus kultiviert; zur Untersuchung kamen Schnitte der oberen Blattepidermis, die mit dem Plasmolytikum infiltriert wurden. Die Blätter verschiedener Altersstufen wurden stets von der gleichen Pflanze genommen.

Die Versuche der Tabelle 19 mit Glukose zeigten bei 0,5 m und 0,75 m nur konvexe Formen, erst bei 1,0 m traten Unterschiede

zwischen den Altersstufen auf, die aber nur gering waren, die Konzentrationswirkung überwog hier zweifellos den Alterseffekt. Dies tritt auch in den Versuchen mit KNO_3 hervor, von denen einer in Tabelle 20 wiedergegeben ist, auch hier fanden sich Differenzen erst bei höherer Konzentration. Im Sinne der beobachteten Plasmolyseformunterschiede lag auch die Ausbildung HECHTscher Fäden: an den konvexen Protoplasten bei niederen Konzentrationen waren sie nicht zu erkennen, während bei 0,8 m KNO_3 feine, bei 1,0 m KNO_3 kräftigere Fäden in den jungen und ausgewachsenen, aber nicht in den gelben ausgebildet waren.

Auch bei Plasmolyse mit $Ca(NO_3)_2$ (Tabelle 21) ergaben sich bei niedriger Konzentration Konvexplasmolysen, doch deutete die Ausbildung HECHTscher Fäden bei schon 0,27 m $Ca(NO_3)_2$ auf eine gegenüber den Zucker- und K-Versuchen erhöhte Konsistenz des Plasmas

Tabelle 19. *Trianaea bogotensis. 20. 8. 48. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (gelb)
	0,5 m Glukose.		
Plasmolyse beginnt konvex, nach 15 Min. alle ohne Altersunterschiede abgerundet.			
	0,75 m Glukose.		
Alle ohne Altersunterschiede von Anfang an konvex.			
	1,0 m Glukose.		
4 min	konkav	konkav	konkav
15 min	eckig	eckig	abrundend
30 min	eckig	eckig	abrundend
Nach $1^1/_2$ und $2^1/_2$ Stunden Abrundung überall nur wenig fortgeschritten.			

Tabelle 20. *Trianaea bogotensis. 2. 8. 48. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbend)
	0,4 m KNO_3.		
4 min	konvex	konvex	konvex
	0,6 m KNO_3.		
4 min	konvex	konvex	konvex
	0,8 m KNO_3.		
4 min	eckig	eckig	eckig
15 min	eckig	eckig abrundend	konvex
30 min	weitgehend abgerundet	konvex	konvex
	1,0 m KNO_3.		
4 min	konkav	konkav	eckig
15 min	konkav	eckig	fast konvex
30 min	konkav	eckig	konvex

Tabelle 21. *Trianaea bogotensis. 8. 8. 48. Obere Blattepidermis, Plasmolyseform.*

Zeit nach Einlegen	Junges Blatt	Ausgewachsenes Blatt	Altes Blatt (vergilbend)
	0,27 m $Ca(NO_3)_2$.		
4 min	Plasmolyse beginnt überall mit konvexen Formen, keine Altersunterschiede		
15 min	konvex	konvex	konvex
	0,40 m $Ca(NO_3)_2$.		
4 min	konvex	konvex	konvex
	0,53 m $Ca(NO_3)_2$.		
4 min	eckig	eckig	eckig
15 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend
75 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend
	0,67 m $Ca(NO_3)_2$.		
4 min	konkav	konkav	konkav
15 min	eckig abrundend	eckig abrundend	eckig abrundend, viele konvex
75 min	eckig abrundend	eckig abrundend	meist konvex

hin. Die Fäden fehlten wiederum in den Zellen der alten Blätter. Bei 0,40 m waren sie kräftiger als bei 0,27 m, in den alten Blättern waren bei 0,40 m wenige starke Verbindungen des Protoplasten mit der Wand sichtbar. Noch höhere Konzentrationen bewirkten weitere Verstärkung der Plasmafäden, wobei wiederum zahlreichen Fäden bei jungen und ausgewachsenen Blättern nur wenige Plasmastränge bei den alten gegenüberstanden. In der Plasmolyseform drückte sich bei 0,53 und 0,67 m fast nur die wasserentziehende Wirkung der höheren Konzentrationen aus, die eventuell vorhandene Altersunterschiede verdeckte. Die höchste Konzentration ist methodisch schon bedenklich, da sich nach 75 Min. an den meisten Protoplasten Schrumpfungserscheinungen zeigten, obwohl sie sich noch deplasmolysieren ließen.

Sehr deutlich trat in vielen Schnitten die Wirkung des Schnittrandes auf die Plasmolyseform hervor; die randnahen Zellen waren bevorzugt konkav plasmolysiert, selbst in Schnitten, in denen überwiegend konvexe Formen vorhanden waren. Im übrigen stellen auch bei *Trianaea* die Tabellen nur Durchschnittswerte dar, mehr oder weniger starke Abweichungen von diesen Werten waren wie bei anderen Objekten überall vorhanden. Auch ein Milieueinfluß ist anzunehmen, da zu verschiedenen Zeiten mit *Trianaea* angestellte Versuche grundsätzlich gleiche, aber quantitativ voneinander abweichende Ergebnisse brachten, indem im einen Falle die Konvexplasmolysen noch bei höheren Konzentrationen auftraten als bei anderen. So unterscheiden sich die K-Versuche der Tabelle 20 von den Ca-Versuchen der Tabelle 21 nicht spezifisch, während beim Vergleich anderer Versuche die „verfestigende"

Wirkung hervortrat. In allen Versuchen mit *Trianaea* verdeckte die Wirkung der Konzentration sehr weitgehend die Altersunterschiede, die hier wohl ebenso wie bei anderen Objekten vorhanden waren. Ich habe dieses Beispiel nicht in Erscheinung tretender Altersunterschiede besonders darum mitgeteilt, weil die Plasmolysebilder sehr viel besser waren als bei den meisten Landpflanzen und eine sehr gute Kennzeichnung gestatteten.

Der Einwand, die beobachteten Plasmolyseformunterschiede entsprächen keinen primär vorhandenen Viskositätsdifferenzen, sondern seien durch das Plasmolytikum selbst hervorgerufen, läßt sich aus diesen Versuchen nicht ohne weiteres widerlegen, da die Ausbildung der HECHTschen Fäden ebenso sekundär bedingt sein könnte und andere Methoden sich nicht zum Vergleich heranziehen lassen. Allgemein treten die Altersunterschiede bei Plasmolyse mit Ca-Salzen besonders deutlich hervor (vgl. z. B. Tabelle 1 und 9), und es ist in keinem Falle die künstliche Komponente dabei völlig auszuschalten. Die Tatsache, daß jeder zellphysiologischen Messung unter Zuhilfenahme der Plasmolyse ein tiefer Eingriff mit unkontrollierberan Folgen vorausgehen muß, bleibt für die Viskosität ebenso bestehen wie für die Permeabilität. Einer allzu großen Skepsis in dieser Hinsicht sind die Arbeiten verschiedener Autoren entgegenzuhalten, in denen die plasmolytische mit anderen Methoden der Viskositätsbestimmung verglichen wurde. BORRISS, der diesen Fragenkomplex kritisch diskutiert hat, betont, daß die Plasmolyseformmethode bei entsprechender Versuchsanstellung und vorsichtiger Auswertung brauchbare Ergebnisse liefert, wenn sie auch, wie anscheinend hier bei *Trianaea* und den eingangs erwähnten Landpflanzen, nicht alle Viskositätsunterschiede aufdecken kann.

VI. Über das „Altern" von Blütenblättern.

Sehr verlockende Objekte zur Untersuchung alternder Organe sind Blütenblätter. Zu der leichten Beobachtungsmöglichkeit kommt, daß in den Blütenblättern das „Altern" gegenüber den Laubblättern mit vielfacher Geschwindigkeit abläuft, so daß anzunehmen ist, daß sich physiologische Unterschiede alter und junger Zellen besonders gut erfassen lassen. STRUGGER plasmolysiert Blütenblätter von *Dahlia variabilis* mit molaren Lösungen von Rohrzucker, KNO_3 und KCNS und findet große Unterschiede in Plasmolyseform und -zeit zwischen sich streckenden und ausgewachsenen Zellen desselben Blütenstandes; die Protoplasten der jungen Zellen zeigen Konkav- und Krampfplasmolyse, während die der älteren sich rasch abrunden. Ähnlich gibt BANCHER für Blütenblätter von *Iris* bei Plasmolyse mit 0,45 m Glukose konkave Plasmolyseform in der Knospe, konvexe in der geöffneten Blüte an, die Konvexplasmolyse bleibt auch beim Abblühen zunächst erhalten

und wird bei weiter fortgeschrittener Entwicklung mehr und mehr durch Tonoplastenstadien abgelöst, bis die Zellen sich nicht mehr plasmolysieren lassen. Für die Beurteilung von BANCHERS Versuchen ist wichtig, daß der osmotische Wert mit dem Fortschreiten des Abblühens abnimmt, die schnellere Abrundung also nicht durch geringere Konzentrationsdifferenz zwischen den älteren Zellen und dem Plasmolytikum hervorgerufen sein kann. Danach würde also in den Blütenblättern ebenso wie in den Laubblättern die Zytoplasmaviskosität mit dem Alter abnehmen. Um die Versuche von STRUGGER und BANCHER auf eine breitere Basis zu stellen, habe ich an einer größeren Anzahl von Blütenblattepidermen die Plasmolyseform in verschiedenen Entwicklungsstadien unter Verwendung verschiedener Lösungen und Konzentrationen geprüft, wozu die Blütenblätter mit dem Plasmolytikum infiltriert wurden. Bei einer Reihe von Objekten fand ich keine oder nur undeutliche Unterschiede zwischen jungen und alten Blättern (*Muscari racemosum*, *Kerria japonica*, *Rhododendron* spec., *Cydonia japonica*, *Phlox setacea*, *Cytisus purpureus*, *Rosa* spec., *Mulgedium alpinum*, *Paeonia* spec., *Hedysarum obscurum*). *Dahlia* verhielt sich wie in STRUGGERS Versuchen, allerdings waren die Unterschiede viel geringer; ebenso zeigte eine Anzahl anderer Pflanzen eine mehr oder weniger beschleunigte Abrundung in älteren Blütenblattzellen, so *Bergenia crassifolia*, *Wistaria sinensis*, *Lunaria rediviva*, *Vinca minor*. Bei den ephemeren Blüten von *Tradescantia virginica* wurden Knospen mit frisch aufgeblühten (morgens) und abgeblühten (nachmittags und abends) Blütenblättern verglichen; die Unterschiede liegen in der gleichen Richtung, sind aber gering, bei den verblühenden ist eine Bestimmung der Plasmolyseform kaum möglich.

Manche Blüten gestatten schon äußerlich eine Beurteilung des Entwicklungszustandes ihrer Zellen durch ihre Färbung, so liegen bei *Lathyrus*-Arten, deren Blütenfarbe von rot nach blau umschlägt, oft rote, violette und blaue Zellen nebeneinander. Ich fand in einigen Fällen bei *Lathyrus niger* und *L. montanus* mit $Ca(NO_3)_2$ schnellere Abrundung in den blauen Zellen, in anderen ließen sich keine Unterschiede sicherstellen. In keinem Falle deutete aber die Plasmolyseform auf eine erhöhte Zytoplasmaviskosität in den älteren Zellen hin.

Ich gebe die Protokolle der einzelnen Versuche aus dem gleichen Grunde nicht wieder, aus dem ich auf ihre Weiterführung und Ergänzung durch Analysen verzichtet habe: es fand stets eine sehr starke Hemmung der Diffusion der plasmolysierenden Lösung im Blattgewebe statt, auch in kleinen Blattstückchen schritt die Abrundung am Rande meist viel rascher fort als im Inneren des Blattstückes. Die Undurchlässigkeit der Kutikula ist bei Blütenblättern — vor allem bei den jungen — besonders groß, daher ist eine Auswertung der Plasmolyse-

formunterschiede im Hinblick auf die Viskosität nur sehr beschränkt möglich. Blütenblätter sind für solche Untersuchungen weniger geeignet, als man zunächst annehmen möchte; da sie aber in ihrem Verhalten mit dem Viskositätsabfall beim Altern der Laubblätter eher übereinstimmen als ihm widersprechen, sei noch kurz auf einige charakteristische Züge aus ihrem Stoffwechsel hingewiesen, der ebenfalls an den der Laubblätter erinnert.

Mit dem Aufblühen scheint der Höhepunkt der Entwicklung vielfach schon überschritten zu sein, danach überwiegen die abbauenden Prozesse und die Auswanderung von organischer und anorganischer Substanz. In den ephemeren Blüten von *Turnera ulmifolia* steigen Frisch- und Trockengewicht bis zum Aufblühen an und fallen dann stark ab, beim Aufblühen verschwindet die Stärke, und das Öffnen der Blüte ist anscheinend von einer hinreichenden Stärkehydrolyse abhängig (BALL). SCHUMACHER zeigt am Beispiel des Eiweißhaushaltes verschiedene Typen des Abblühens: Blütenblätter, die stark welken, bauen ihr Eiweiß im allgemeinen stark ab und lassen die Spaltprodukte auswandern, während bei den frisch bleibenden der Eiweißabbau wenig hervortritt und die Ableitung gering ist. Der Abbau erfolgt zum Teil spontan (Kakteen), zum Teil wird er durch bekannte Ursachen ausgelöst (Bestäubung bei Orchideen). Aus SHIBATAs Analysen geht ebenfalls ein Eiweißabbau in der geöffneten Blüte von *Begonia Evansiana* hervor. Weiter gibt COMBES (1935b) Eiweißhydrolyse und N-Auswanderung nach dem Aufblühen von *Lilium croceum* an, nachdem in der Knospe der Gesamt-N- und Eiweißgehalt angestiegen war; ebenso findet eine Umkehr des Transportes von Mineralstoffen und Kohlehydraten (vor allem reduzierenden Zuckern) im Zeitpunkt der Entfaltung dieser Blüte statt (COMBES 1935a, 1936). Die umfassendsten Untersuchungen sind die von PHILLIS und MASON an der ephemeren Baumwollblüte: in der Nacht vor dem Aufblühen nehmen die Korollen N, P, K und Mg auf, nach dem Aufblühen wandern diese Stoffe wieder aus, in geringerem Maße nimmt auch Cl an dieser Umkehr der Transportrichtung teil. Ca dagegen bleibt vom Abend vor dem Aufblühen bis zum Morgen danach relativ konstant, so daß der Quotient K:Ca bis zum Aufblühen ansteigt, danach aber wie bei den Laubblättern kleiner wird. Sollte dies allgemein gelten, wie man wegen der Unbeweglichkeit von Ca im Phloem wohl annehmen darf, die seine Rückleitung aus der Korolle verhindert, so wären die Charakteristika des Stoffwechsels alter Laubblätter, die sinkenden Quotienten K:Ca und Eiweiß-N:lösl. N sowie die Auswanderung von K, P, Mg und löslichen N-Fraktionen auch bei den Blütenblättern vorhanden; weitere Analysen der verschiedenen Formen des Abblühens müssen dies bestätigen. Diese verschiedenen Typen, wie sie SCHUMACHER herausgestellt hat, zeigen

aber auch, daß der Verlauf nicht überall der gleiche ist, sondern mindestens die quantitativen Verhältnisse und die auslösenden Mittel verschieden sein können. Solche Unterschiede, die auch beim Altern der Laubblätter vorhanden sind, lassen sich an Blütenblättern mit ihrer überfeinen plasmatischen Organisation eher erfassen, doch sollte man auch die gemeinsamen Züge der Erscheinungen hier eher klarlegen können; schon zeitlich ist die Umkehr des Stoffwechselgeschehens in Blüten, wo sie als plötzlicher Plasmaabbau in Erscheinung treten kann, leichter festzulegen. Wie mannigfaltig und verwickelt die Vorgänge im einzelnen sind, zeigt die zusammenfassende entwicklungsphysiologische Darstellung von FITTING, der mit der Entdeckung des Pollenhormons der Orchideen zum erstenmal eine innere Ursache für einen Altersvorgang im weiteren Sinne erfaßt hat; hier sehen wir den Träger eines „catabolic impulse", der schlagartig die Umstellung des Stoffwechsels bewirkt, ohne daß wir den Hebel selbst kennen, der angesetzt wird, oder den Punkt, an dem er angreift. Über experimentelle Steuerung des Abblühvorganges berichtet LEPESCHKIN (1929); jedoch muß hier noch fast alle Arbeit getan werden, um die beteiligten Faktoren zu beherrschen und unsere Vorstellung auf eine breite Basis zu stellen. Hier liegen weite Aufgaben auch für die junge Arbeitsrichtung der Protoplasmatik, deren methodische Lücken wir angesichts so reizvoller Objekte besonders empfinden.

VII. Besprechung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse der plasmolytischen Messungen in dieser und der vorhergehenden Mitteilung lassen sich dahin zusammenfassen, daß in Blattzellen, soweit Unterschiede mit dieser Methode meßbar werden, die Zytoplasmaviskosität mit dem Alter abnimmt; Ausnahmen bilden lediglich vereinzelte Befunde an *Ranunculus Ficaria*. Diese Abweichungen zeigen, daß der Alterseffekt von anderen Wirkungen überlagert werden kann, wie die Zytoplasmaviskosität überhaupt vielfach und rasch zu beeinflussen ist. Gerade darum ist hervorzuheben, daß bestimmt gerichtete Altersunterschiede der Plasmolyseform bei Wasserpflanzen, krautigen Landpflanzen und Bäumen im assimilierenden Gewebe und in der Epidermis feststellbar sind, während für andere zellphysiologische Größen (Permeabilität, osmotischer Wert, p_H, Resistenz) solche einheitlichen Altersgradienten bisher nicht gefunden wurden (vgl. FISCHER). Dieser Befund steht nicht im Widerspruch zu den verstreuten Angaben in der Literatur, von denen in der ersten Mitteilung gezeigt wurde, daß die gelegentlich mitgeteilte Viskositätserhöhung des Plasmas alternder Zellen nicht gesichert ist. Den Versuchen von BIEBL, nach denen sich bei Rotalgen die Plastiden in den älteren Zellen durch Zentrifugalkräfte schwerer verlagern lassen als in den jüngeren, stehen

andere von HÖFLER (1936) an anderen Rotalgen gegenüber, bei denen das Gegenteil beobachtet wurde; der Widerspruch zeigt die mangelnde Eignung der Zentrifugenmethode für die Messung altersbedingter Viskositätsunterschiede. Die von DE GREGORIO ROCASOLANO beschriebene Abnahme der BROWNschen Molekularbewegung in Hefezellen mit zunehmendem Alter der Kultur beweist keine Viskositätserhöhung, da von einer gleichlaufenden Teilchenvergrößerung gesprochen wird; ähnliches gilt möglicherweise für die entsprechenden Befunde von CHIFFLOT und GAUTIER an Algen, die ich nicht im Original einsehen konnte. Die Möglichkeit, daß bei Mikroorganismen andere Verhältnisse herrschen als in Gewebezellen, muß aber zunächst offen bleiben.

Einige Beobachtungen, besonders in der Umgebung nekrotischer Stellen bei *Lemna*-Blättern, bei denen kurz vor dem Absterben der Zelle wieder mehr Konkavplasmolysen gefunden wurden, hängen wohl mit einer prämortalen Koagulation zusammen und entsprechen gleichartigen Beobachtungen bei verschiedenen Formen der Nekrobiose (LEPESCHKIN 1937); die konkaven Formen in der Nähe des Schnittrandes, wie ich sie besonders bei *Trianaea* sah, lassen sich sinngemäß hier einordnen.

Die möglichen Einwände methodischer Art wurden durch das verwendete Untersuchungsverfahren möglichst entkräftet, die Versuchsergebnisse sind mit den Vorbehalten zu betrachten, die gegenüber der Plasmolyseformmethode und der Bestimmung der Viskosität im Plasma überhaupt gemacht werden müssen (FISCHER). Dazu gehört auch die Einschränkung, daß sich in der Plasmolyseform unter Umständen nur die Eigenschaften der Außenschichten ausdrücken, wenn ihr auch übereinstimmende Messungen an Außen- und Binnenplasma gegenüberstehen und sich vielleicht gerade bei dem dünnen Plasmabelag älterer Zellen solche Unterschiede verwischen. Die Dicke des Plasmabelages ist andererseits beim Vergleich junger und alter Zellen als Fehlerquelle nicht völlig auszuschalten; der Fehler wird in der Richtung der beobachteten Gradienten wirken. Zweifellos sind aber die stärkeren Unterschiede nicht nur auf eine Änderung der Menge, sondern auch der Eigenschaften des Zytoplasmas zurückzuführen, wofür auch die oft beobachtete Bildung kräftiger Plasmafäden in den jüngeren Zellen spricht. Leider versagen andere Methoden der Viskositätsbestimmung, wie in der ersten Mitteilung ausgeführt wurde.

Zur Auswertung der Analysen braucht kaum hervorgehoben zu werden, daß diese nicht den Gehalt des Zytoplasmas an den bestimmten Stoffen wiedergeben. Während K in löslicher Form in der Zelle vorhanden ist, wird Ca weitgehend aus dem Stoffwechsel entfernt und besonders bei seiner Zunahme mit dem Alter festgelegt; das Ausmaß der Ca-Bindung ist dabei quantitativ und qualitativ sehr verschieden. Wie zuletzt aus ILJINS Untersuchungen hervorgeht, gibt es entsprechend

der Art der vorhandenen organischen Säuren neben Pflanzen, die viel gelöstes Ca im Zellsaft enthalten, solche, die es daraus weitgehend als Oxalat ausfällen, dazu tritt eine adsorptive Bindung an kolloidale Bestandteile. Wenn man diesen Verhältnissen im Preßsaft entsprechende Gleichgewichte im Plasma annehmen darf, so drücken sich darin hinsichtlich des Kationenhaushaltes recht verschiedene Plasmatypen aus. Im ersten Falle verändert sich im Zellsaft Gesamt-Ca und lösliches Ca — auch mit Alter und Jahreszeit (Iljin) — gleichsinnig, und es ist anzunehmen, daß auch im Plasma relativ viel *Ca-Ionen* vorhanden sind, im zweiten Fall steht vielleicht auch im Plasma einem geringen Gehalt an Ca-Ionen ein hoher an K-Ionen gegenüber. Für die Verhältnisse im Plasma könnte ferner gerade eine gebundene Ca-Fraktion von Bedeutung sein, die Löslichkeit der Ionen würde danach weniger als die Adsorption ihre physiologische Aktivität widerspiegeln. Beim Versuch zu einer vollständigen Bilanz wären auch andere Ionen, vor allem Mg, zu berücksichtigen. In der begründeten Annahme, daß die K- und Ca-Analysen einen Anhaltspunkt für die Ionenwirkung im Zytoplasma geben, sollen hier die Änderungen im K- und Ca-Gehalt mit dem Alter besprochen werden.

Der K-Abnahme und Ca-Zunahme mit dem Alter — beide erfolgen auch in den Versuchen dieser Arbeit allmählich — steht, wie aus der Literatur gezeigt wurde, eine relative Konstanz des N-Haushaltes gegenüber; erst während des Vergilbens oder kurz davor findet eine starke Verschiebung nach der Seite des löslichen N statt. In diesem Stadium werden fast nur Konvexplasmolysen beobachtet, der Übergang zu ihnen von den mehr oder weniger konkaven Formen in den jungen Blättern vollzieht sich nicht plötzlich mit der Umstellung des Eiweißhaushaltes, sondern allmählich wie das Absinken von K:Ca.

Ob die Blütenbildung einen Einfluß auf den Viskositätsgradienten hat, habe ich besonders an *Phaseolus multiflorus* zu klären versucht. Ich fand dort stets die gleichen Verhältnisse, ob sich die Pflanzen im vegetativen, blühenden oder fruchtenden Zustande befanden. Lediglich indirekt scheint die Blütenbildung durch Beeinflussung des physiologischen Alters auf die Viskosität einzuwirken, es sei denn, daß feinere Unterschiede auch hier nicht erfaßbar waren. Mit diesem Vorbehalt darf man schließen, daß das altersbedingte Gefälle der Plasmolyseform weniger Ausdruck und Ursache bestimmter Altersvorgänge ist, als daß es vielmehr den auch durch diese mitbestimmten Gesamtzustand der Zelle repräsentiert.

Um zu klären, welche Beziehungen zwischen Plasmolyseform und Mineralsalzgehalt bestehen, habe ich ferner eine experimentelle Beeinflussung des Alterns und der Plasmolyseform bei konstantem Mineralstoffgehalt versucht, indem ich durch Verdunkeln abgeschnittener

Blätter ein Vergilben künstlich induzierte. Hierzu dienten die Pflanzen aus den Versuchen der Tabellen 1 und 2; es wurden die den Versuchsblättern gegenüberstehenden Blätter verwendet. Sie wurden in großen Petrischalen angesetzt, die mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegt und mit schwarzem Papier verdunkelt waren. Es gelang aber nicht, auf diese Weise weiter vorzudringen, da die verdunkelten Blätter oft schon nach einigen Stunden allgemein Konvexplasmolyse zeigten. Es muß dahingestellt bleiben, ob lediglich die Dunkelheit (vgl. WEBER 1929) oder ein anderer in den Versuchsbedingungen wirksamer Faktor für diesen Effekt maßgebend ist. Blätter von *Polygonum cuspidatum* verhielten sich ebenso. Ein Vergilben ohne Stoffableitung ist bei abgeschnittenen Blättern auch im Licht zu erreichen, doch tritt es sehr langsam ein (MICHAEL 1935). In solchen Versuchen, bei denen die Blätter von *Hydrangea hortensis* und *Polygonum cuspidatum* mit den Stielen in Bechergläser mit Wasser gestellt wurden, starben sie ab, ehe ein durch Vergilben sichtbares Altern eintrat. Bis dahin war lediglich eine leichte Tendenz zu mehr konvexen Plasmolyseformen in den jüngeren Blättern bemerkbar.

Wenn auf diese Weise eine mit dem physiologischen Altern parallel gehende Veränderung der Plasmolyseform bei konstantem Mineralstoffgehalt nicht erreicht werden konnte, so zeigen andererseits die Dunkelversuche einen deutlichen Fall einer Viskositätsänderung, die weder vom Alter noch vom Mineralstoffgehalt ausgehen kann. Ionenwirkungen sind als Grundlage solch kurzfristiger Änderungen höchstens anzunehmen, wenn sich Verteilung, Konzentration oder Bindung der wirksamen Ionen an den empfindlichen Punkten der Plasmastruktur bei gleichbleibendem Gesamtgehalt an Mineralstoffen ändern. Solche Verschiebungen sind durchaus möglich, darüber hinaus kann ein Einfluß des Verhältnisses der Gesamtionen vorhanden sein, welches seinerseits durch Ernährung, Umwelt und Alter mitbestimmt wird. Wieweit eine naheliegende stetige p_H-Verschiebung mit dem Alter als Ursache von Viskositätsänderungen in Betracht kommt, läßt sich vorläufig nicht entscheiden, da kein einheitliches Gefälle für Wasserstoffionenkonzentration und Säuregehalt aus der Literatur hervorgeht (SMALL, PAECH 1940a, ILJIN). Auch wenn ein solches gefunden wäre, dürfte man aus den Bestimmungen im Preßsaft kaum auf Werte im Plasma schließen. Andererseits ist die Wirksamkeit gerade des Wasserstoffions auf die Viskosität als besonders groß anzunehmen; intraplasmatische Differenzen wären zu berücksichtigen (SPEK, SCHORR).

Hier ist noch einmal die eingangs erwähnte Förderung des Alterns durch Mangelerscheinungen zu erwähnen, wie sie bei N-, P-, K- und Mg-Mangel auftritt und der keine spezifische Wirkung eines Einzelelements zugrunde zu liegen scheint. Der bei Mangelerscheinungen

vielfach verringerte Eiweißanteil am Gesamt-N legt die Deutung des Eiweißabbaus beim regulären Vergilben als Mangelerscheinung nahe, um so mehr, als bei krautigen Pflanzen die unteren Blätter im Alter von den genannten Elementen entleert werden. Bei Bäumen ist aber die herbstliche Stoffabgabe aus den Blättern sicher erst eine Folge des Abbaus, auch für Alterserscheinungen der Blätter, die von der Blüte her induziert werden, wird man mit einer Mangelwirkung als Erklärung nicht auskommen. Wir müssen uns vorläufig auf eine allgemeinere Vorstellung beschränken, bei welcher der im Minimum befindliche Nährstoff den Abbau fördern kann, dieser aber mindestens in vielen Fällen durch andere Faktoren ausgelöst wird.

Die meisten Erklärungen der Ioneneffekte stellen den hydrophilen Charakter der Plasmakolloide und damit die Hydratationswirkung in den Vordergrund, wie es in letzter Zeit für die Pflanzenzelle besonders durch KESSLER und RUHLAND und mit einer etwas anderen Modellvorstellung durch SCHMIDT, DIWALD und STOCKER geschehen ist. Danach wirken einwertige Ionen wie $K^{\cdot}$ hydratisierend und viskositätserhöhend, zweiwertige wie $Ca^{\cdot\cdot}$ im entgegengesetzten Sinne, auch unsere Befunde lassen sich hier anschließen. Derartige Vorstellungen geben ein bewußt vereinfachtes Bild der Plasmastrukturen, bei welchen es sich nicht um einfache Eiweißlösungen, sondern um Kolloidgemische handelt, die mit anderen Systemen, wie den Vakuolen, in Wechselwirkung stehen. Viskositätsänderungen in Abhängigkeit von der Hydratation, für welche das Verhältnis des Teilchenvolumens zum „freien" Wasser maßgebend ist, sind davon abhängig, ob die Hydratation lediglich auf Kosten des intermicellaren Wassers erfolgt, oder ob zugleich eine Wasseraufnahme durch das gesamte Plasma stattfindet. Eine ausreichende Erklärung aller Beobachtungen ist beim derzeitigen Stand unserer Kenntnisse der Ionenwirkungen auf lyophile Kolloide nicht zu erwarten (vgl. PHILIPPOFF, S. 344).

Auf den scheinbaren Widerspruch der Annahme einer verstärkten Hydratation durch K mit der meist und auch in dieser Arbeit bei Plasmolyse oder Vorbehandlung mit K-Salzen festgestellten Tendenz zur Konvexform wurde schon in der ersten Mitteilung hingewiesen. Auch hier ist besonders die zusätzliche Wasseraufnahme durch das Zytoplasma von Bedeutung, die im Extremfall zur Kappenplasmolyse mit sehr niedriger Viskosität führt (PEKAREK). Die unterschiedliche Ionenwirkung auf eine mehr gelartige Außenschicht im Vergleich zum Binnenplasma heben KESSLER und RUHLAND hervor. Die Ergebnisse sind nicht einheitlich, da in der Literatur auch „Verfestigung" durch K und „Verflüssigung" durch Ca angegeben wird. DE HAAN (1935) bespricht die hierzu vorhandenen Arbeiten und zeigt am Beispiel der Wirkung ein- und mehrwertiger Ionen auf die Wasserpermeabilität, daß

Ausmaß und Richtung dieser Wirkung von der Konzentration der Ionen abhängt; eine entsprechende systematische Untersuchung für die Plasmolyseform könnte ähnliche Ergebnisse liefern und deutlicher machen, wie weit die Ionen im Plasma selbst oder nur in der Grenzschicht wirken, also die Permeabilität maßgebend ist. HÖFLERs (1939) Befund, daß auch Ca in das Plasma eindringt, gilt zunächst nur für den pathologischen Zustand der Kappenplasmolyse, während andererseits DE HAAN (1934), der nach kurzfristiger Vorbehandlung mit hypotonischer $NaNO_3$-Lösung Kappenplasmolyse erzielte, es für unwahrscheinlich hält, daß die Kappenbildung auf einem Intrameieren des Na-Salzes beruht.

Wie wenig man Beobachtungen von einem System auf andere übertragen darf, zeigen neuerdings wieder RANZI, CITTERIO und GIUDICI, die mit dem Ostwaldviskosimeter gerade die Wirkung der stark „quellenden" Ionen $Li^{\cdot}$ und CNS' auf Eiweißlösungen aus Tiereiern untersuchen und dabei entgegengesetzte Wirkungen auf verschiedene Präparate finden, wobei die Gesetzmäßigkeit zu gelten scheint, daß im Vergleich zu $K^{\cdot}$ und Cl' bei fadenförmigen Molekülen $Li^{\cdot}$ die Viskosität erhöht und CNS' sie herabsetzt, während bei kugeligen und stäbchenförmigen beide Ionen viskositätserhöhend wirken. Die hierin zum Ausdruck kommende Bedeutung der Micellform für die Viskosität, die allerdings zum Teil auch eine Hydratationsfunktion ist, muß um so mehr hervorgehoben werden, als schon durch p_H-Veränderungen erhebliche Verformungen der Teilchen und damit Viskositätsänderungen auftreten können, wie es z. B. SVEDBERG und ERIKSSON-QUENSEL am Hämocyanin der Weinbergschnecke zeigen (vgl. PHILIPPOFF, S. 195). Gerade bei langfristigen Änderungen der Plasmastruktur, wie sie im Laufe des Alters erfolgen, ist eine Veränderung von Teilchenform und -größe in Betracht zu ziehen, ebenso aber auch im Zusammenhang mit dem Eiweißabbau beim Vergilben. Leider fehlen entsprechende biochemische Daten für die Eiweißstoffe der Pflanze.

Diese Korrekturen müssen berücksichtigt werden, wenn man für das Altern wie für verminderte Kälte- und Trockenresistenz der Blattzellen eine geringere Hydratationsfähigkeit des Zytoplasmas aus der Plasmolyseform schließen darf, eine Veränderung, die auch nach PAECHs (1940b) Untersuchungen wahrscheinlich ist. Durch Annahme der Hydratation als maßgebender plasmatischer Größe ergibt sich eine geschlossene Vorstellung, in welche sich Altern, Resistenz, Ruheperiode und physiologische Aktivität einfügen (KESSLER und RUHLAND; SCHMIDT, DIWALD und STOCKER; PAECH 1940b). Die stetige Verkleinerung des Verhältnisses K:Ca, wie sie sich durch Aufnahme und Transport im Laufe der Entwicklung ergibt, dürfte entsprechende Veränderungen der Plasmastruktur nach sich ziehen. Dagegen sind unstetige Vorgänge im Leben des Blattes und der ganzen Pflanze wie Laubfall und Fortpflanzung

sicherlich nicht durch den Mineralstoffwechsel bestimmt, sondern verändern ihn ihrerseits, z. B. durch Stoffbewegungen. Hier greifen andere Faktoren in den Stoffwechsel ein und überlagern das passive Altern fördernd oder hemmend.

Zur Deutung des Alterns der Organismen analog dem Altern der Kolloide bringt neuerdings KOPACZEWSKI einen Beitrag durch Untersuchungen am Pferdeserum. Er findet bei Aufbewahrung des Serums in paraffinierten Flaschen mit der Zeit abnehmende Hydratation, zunehmende Teilchengröße und erst abnehmende, dann wieder ansteigende Viskosität. Trotz den Analogien zu manchen Beobachtungen an Zellen einschließlich der gelegentlich festgestellten prämortalen Viskositätssteigerung ist es bei unserer Kenntnis des Alterns der Kolloide im allgemeinen, das gerade hinsichtlich der Viskosität in verschiedenem Sinne verlaufen kann (PHILIPPOFF, S. 251ff.), und der Biokolloide im besonderen durchaus offen, wie weit man das Altern der Zelle mit dem ihrer Kolloide in Zusammenhang bringen will. Ein spontaner Viskositäts- und Hydratationsabfall mit dem Alter ist denkbar, Verschiebungen im Ionenverhältnis, wie wir sie fanden, können in der gleichen Richtung wirken, Außenfaktoren darüber hinaus Schwankungen hervorrufen. Dieses passive Altern tritt aber hinter der Bedeutung der Korrelationen zurück, wenn man ein Merkmal des Lebens darin sieht, daß es einer spontanen Veränderung der Zellkolloide durch Energiefreisetzung und ständige Erneuerung der lebenden Substanz entgegenwirkt; der generativen Sphäre kommt eine beherrschende Rolle für den Gesamtorganismus zu, es ist, als würde dort die Feder des Lebens wieder gespannt. Gerade von dort aus wird aber auch vielfach das Altern der vegetativen Organe eingeleitet oder gefördert, ohne daß dabei die Mineralstoffe, wie sie analytisch erfaßt wurden, im Vordergrund stehen. Auch für die Viskosität, wie wir sie aus der Plasmolyseform erschließen, lassen sich nur Beziehungen zu den stetig verlaufenden Altersveränderungen feststellen, nicht aber zu den großen Umlenkungen des Stoffwechsels, an welche gerade besonders auffallende Alterserscheinungen der Blätter gebunden sind.

Wie der Stoffwechsel hier auch eingreifen, worin der steuernde Impuls bestehen mag, auch er ist zweifellos strukturgebunden, und wenn es Ziel der Zellphysiologie ist, Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion aufzudecken, so erscheint es doch fraglich, ob sie die Ursache der besprochenen Regulationen bei den Größen zu suchen hat, welche die Protoplasmatik heute messen kann; eher dürfte die Viskosität erst das Resultat von Reaktionen sein, die von feineren Strukturen beherrscht werden. Gerade die altersbedingten Änderungen, die eng mit dem Eiweißhaushalt verknüpft sind, werden offenbar nicht von der Zytoplasmaviskosität bestimmt, sondern legen den Gedanken

lokaler antagonistischer Ionenwirkungen, p_H- und r_H-Verschiebungen an bestimmten Orten der Fermentbindung nahe. Darüber hinaus sollte aber besonders für den Stoffwechsel des Eiweißes als des Trägers und Substrates der Fermentwirkung nach den Arbeiten CASPERSSONS das Steuerungszentrum ebenso im Zellkern wie im Zytoplasma gesucht werden. Gelingt es, experimentell hier weiter vorzustoßen, so werden sich von dem gewonnenen Neuland aus auch neue Ausblicke auf das Altersproblem eröffnen.

Zusammenfassung.

1. Es werden die Literaturangaben über die Abhängigkeit des Stoffwechsels der Laubblätter vom Alter besprochen, wobei unter diesem Begriff neben den stetig verlaufenden Veränderungen auch solche zusammengefaßt werden, bei denen durch korrelative und Außeneinflüsse der Entwicklungsablauf des Einzelblattes beschleunigt wird. Diese Wirkungen überlagern jene vielfach und scheinen in erster Linie die äußerlich am Vergilben erkennbaren, innerlich durch Eiweißabbau und Stoffverschiebungen charakterisierten Alterserscheinungen auszulösen.

2. Die schon früher an Submersen festgestellte Viskositätsabnahme des Zytoplasmas alternder Blätter wird an einer Reihe von Landpflanzen unter Beschränkung auf die plasmolytische als die allein verwendbare Methode bestätigt; wo Unterschiede der Plasmolyseform meßbar sind, haben die jüngeren Zellen die mehr konkaven Formen. Ausnahmen bilden nur vereinzelte Fälle bei *Ranunculus Ficaria*. Es wird geschlossen, daß der plasmolytisch erfaßbare Teil der Viskosität mit zunehmendem Alter der Blätter stetig abnimmt.

3. Im gleichen Material durchgeführte Analysen zeigen Zunahme des Ca-Gehaltes der Asche im Vergleich zum K-Gehalt. Die stetige Abnahme des Verhältnisses K:Ca kann mit der sinkenden Zytoplasmaviskosität im Sinne einer Ionenwirkung auf die Hydratation in Zusammenhang gebracht werden; jedoch heben unter anderem Viskositätsveränderungen bei konstantem Mineralstoffgehalt die Beteiligung anderer Faktoren hervor.

4. Grundsätzlich gleiche Altersveränderungen von Plasmolyseform und Mineralsalzgehalt wie bei Landpflanzen und Submersen sind auch bei den „Blättern" der *Lemnaceen* vorhanden. Der zuerst von STRUGGER beschriebene Gradient der Plasmolyseform von der Spitze zur Basis der *Lemna*-Wurzel ergänzt diesen Befund für ein Organ anderer Art.

5. Bei *Trianaea bogotensis* zeigt sich vor allem der Einfluß der Konzentration des Plasmolytikums auf die Blattzellen.

6. Blütenblätter sind wegen der hohen Diffusionswiderstände für das Plasmolytikum zu Plasmolyseversuchen wenig geeignet; aus den Versuchen mit den Blüten einer Reihe von Pflanzen kann daher nur

festgestellt werden, daß sie mit Viskositätsbestimmungen an Laubblättern verschiedenen Alters eher übereinstimmen als ihnen widersprechen.

7. Der stetige Viskositätsabfall mit dem Alter der Blätter kann nur einem Teil der Altersvorgänge entsprechen, sein Parallelgehen mit dem Quotienten K:Ca nur in beschränktem Umfange eine Kausalverknüpfung beider Größen mit dem Alter darstellen. Andere Alterserscheinungen dürften durch Stoffwechselvorgänge auf unbekannter struktureller Grundlage bestimmt sein.

Literatur.

Alten, F., G. Goeze u. H. Fischer: Kohlensäureassimilation und Stickstoffhaushalt bei gestaffelter Kaligabe. Bodenk. u. Pflanzenern. **5**, 259 (1937). — Ball, N. G.: A physiological investigation of the ephemeral flowers of *Turnera ulmifolia*. New Phytologist **32**, 13 (1933). — Bancher, E.: Zellphysiologische Untersuchungen über den Abblühvorgang bei *Iris* und *Gladiolus*. Österr. bot. Z. **87**, 221 (1938). — Biebl, R.: Zur protoplasmatischen Anatomie der Rotalgen. Protoplasma (D.) **28**, 582 (1937).— Böttcher, R., u. H. Behling: Licht, Transpiration, Salzaufnahme und Blattstruktur. Flora (Jena) **134**, 1 (1940). — Borriss, H.: Plasmolyseform und Streckungswachstum. Jb. Bot. **86**, 784 (1938). — Caldwell, J., and J. Meiklejohn: Observations on the oxygen uptake of isolated plant tissue. I. Ann. Bot., N. s. **1**, 477 (1937). — Caspersson, T.: Studien über den Eiweißumsatz der Zelle. Naturw. **29**, 33 (1941). — Chibnall, A. C., and P. N. Sahai: Observations on the fat metabolism of leaves. I. Ann. Bot. **45**, 489 (1931). — Chifflot, J., et C. Gautier: Sur les mouvements browniens intraprotoplasmiques. C. r. Soc. Biol. **58**, 792 (1905). — Claes, H.: Die Beteiligung des dissimilatorischen Stoffwechsels an der photoperiodischen Reaktion von *Hyoscyamus niger*. Z. Naturforsch. **2b**, 45 (1947). — Combes, R.: Étude biochimique de la fleur. C. r. Acad. Sci. Paris **200**, 578 (1935a); **200**, 1970 (1935b); **203**, 1282 (1936). — Czapek, F.: Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Bd. II. Jena 1920. — Deleano, N. T., u. Andreesco: Beiträge zum Studium der Rolle und der Wirkungsweise der Mineral- und organischen Stoffe im Pflanzenleben. I. Beitr. Biol. Pflanz. **19**, 249 (1932). — Deleano, N. T., u. C. Bordeianu: Beiträge zum Studium der Rolle und der Wirkungsweise der Mineral- und organischen Stoffe im Pflanzenleben. II. Beitr. Biol. Pflanz. **20**, 179 (1933). — Deleano, N. T., u. P. Gotterbarm: Beiträge zum Studium der Rolle und der Wirkungsweise der Mineral- und organischen Stoffe im Pflanzenleben. III. Beitr. Biol. Pflanz. **24**, 19 (1936). — Doby, G. v., u. G. v. Fülecky: Über den Stickstoffumsatz in Pflanzen. Biochem. Z. **316**, 52 (1944). — Duspiva, F.: Die cytologischen Grundlagen der Verankerung der Enzyme. Handbuch Enzymologie, Bd. 1, S. 11. 1940.—Échevin, R.: L'azote, le phosphore, et le soufre chez les plantes ligneuses à feuilles caduques. Rev. gén. Bot. **43**, 517 (1931). — Sur quelques formes biologiques du phosphore des feuilles chez les arbres. Rev. gén. Bot. **48**, 505 (1936). — Engel, H.: Beiträge zur Kenntnis des Stickstoffumsatzes grüner Pflanzen. Planta (Berl.) **7**, 133 (1929). — Euler, H. v., A. Forssberg, D. Runehjelm u. H. Hellström: Zur chemischen Charakterisierung von erblichen Chlorophylldefekten. Z. Abstamm.lehre **59**, 131 (1931). — Fischer, H.: Plasmolyseform und Mineralsalzgehalt in alternden Blättern. I. Planta (Berl.) **35**, 513 (1948). — Fitting, H.: Das Verblühen der Blüten. Naturw. **9**, 1 (1921). — Gassner, G., u. G. Goeze: Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße

von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kalium- und Stickstoffernährung. Z. Bot. **27**, 257 (1934). — GOUWENTAK, C. A.: Untersuchungen über den N-Stoffwechsel von *Helianthus annuus*. Rec. Trav. bot. néerl. **26**, 19 (1929). — Über die herbstliche Änderung von Stickstoff und Trockengewicht im Laubblatt einer einjährigen Pflanze. Rec. Trav. bot. néerl. **28**, 421 (1931). — DE GREGORIO ROCASOLANO, A.: Physikalisch-chemische Hypothese über das Altern. Kolloidchem. Beih. **19**, 441 (1924). — GREGORY, F. G., and F. J. RICHARDS: Physiological studies in plant nutrition. I. Ann. Bot. **43**, 119 (1929). — GREGORY, F. G., and P. K. SEN: Physiological studies in plant nutrition. VI. Ann. Bot., N. s. **1**, 521 (1937). — DE HAAN, I.: Kappenplasmolyse und Wasserpermeabilität. Protoplasma (D.) **22**, 395 (1934). — Ionenwirkung und Wasserpermeabilität. Protoplasma (D.) **24**, 186 (1935). — HÖFLER, K.: Vertragen Rotalgen das Zentrifugieren? Protoplasma (D.) **26**, 377 (1936). — Kappenplasmolyse und Ionenantagonismus. Protoplasma (D.) **33**, 544 (1939). — HOVER, J. M., and F. G. GUSTAVSON: Rate of respiration as related to age. J. gen. Physiol. (Am.) **10**, 33 (1926). — ILJIN, W. S.: Salze und organische Säuren bei Kalkpflanzen. Flora (Jena) **137**, 265 (1944). — KESSLER, W., u. W. RUHLAND: Weitere Untersuchungen über die inneren Ursachen der Kälteresistenz. Planta (Berl.) **28**, 157 (1938). — KIDD, F., C. WEST and G. E. BRIGGS: A quantitative analysis of the growth of *Helianthus annuus*. I. Proc. roy. Soc., Lond. B **92**, 368 (1921). — KNOTT: Catalase in relation to growth and other changes in plant tissue. N. Y. Cornell exper. Sta. Mem. **106** (1927). Zit. nach POPE 1932. — KOPACZEWSKI, W.: Problème de vieillissement: Recherches sur les colloides. Protoplasma (D.) **30**, 291 (1938). — KRAMER, B., and F. F. TISDALL: The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. J. biol. Chem. (Am.) **48**, 223 (1921). — KROSSING, G.: Versuche zur Lokalisation einiger Fermente in den verschiedenen Zellbestandteilen der Spinatblätter. Biochem. Z. **305**, 359 (1940). — KROTKOV, G.: Carbohydrate and respiratory metabolism in the isolated starving leaf of wheat. Plant Physiol. **14**, 203 (1939). — LEPESCHKIN, W. W.: The causes of ephemery of flowers. Amer. J. Bot. **16**, 314 (1929). — Zell-Nekrobiose und Protoplasma-Tod. Berlin 1937. — LUTMAN, B. F., and N. L. WALBRIDGE: The role of magnesium in the ageing of plants. Vermont Agric. exper. Sta. Bull. **296**, 485 (1929). Zit. nach Ref. Ernähr. Pflanz. **31**, 387 (1935). — MARSH, P. B., and D. R. GODDARD: Respiration and fermentation in the carrot, *Daucus Carota*. I. Amer. J. Bot. **26**, 724 (1939). — MASON, T. G., E. J. MASKELL and E. PHILLIS: Further studies on the transport in the cotton plant. III. Ann. Bot. **50**, 23 (1936). — MICHAEL, G.: Über die Beziehungen zwischen Chlorophyll- und Eiweißabbau im vergilbenden Laubblatt von *Tropaeolum*. Z. Bot. **29**, 385 (1935). — Über die Aufnahme und Verteilung des Magnesiums und dessen Rolle in der höheren grünen Pflanze. Bodenk. u. Pflanzenern. **25**, 65 (1941). — MICHAEL, G., u. L. HEIDECKER: Ein weiterer Beitrag zur Veränderlichkeit der Phosphorsäurefraktionen im Spinat in Abhängigkeit von verschiedener Phosphorsäuredüngung. Bodenk. u. Pflanzenern. **17**, 358 (1940). — MICHEL-DURAND, E.: Sur l'azote, le soufre, le phosphore, le potassium des feuilles de *P. Laurocerasus* au moment de leur chute. C. r. Acad. Sci. Paris **195**, 1419 (1932). — Sur le métabolisme du phosphore dans les feuilles de quelques plantes à feuillage persistante au cours de jaunissement. C. r. Acad. Sci. Paris **201**, 1215 (1935). — MICHEL-DURAND et QUENDIAC: Le système séparateur dévelopé à la base du petiole exerce-t-il une influence sur la migration automnale? Rev. gén. Bot. **49**, 289 (1937). — MOTHES, K.: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta (Berl.) **12**, 687 (1931). — Sauerstoffpotential und Eiweißumsatz im Laubblatt. Flora (Jena) **128**, 58 (1933). — Über den Schwefelstoffwechsel der Pflanzen. II. Planta (Berl.)

29, 67 (1939). — NEISH, A. C.: Studies on chloroplasts. II. Biochem. J. (Brit.) **33**, 300 (1939). — NICOLAS, G.: Contribution à l'étude des variations de la respiration des végétaux avec l'age. Rev. gén. Bot. **30**, 209 (1918). — NOACK, K.: Zum biologischen Abbau des Chlorophylls. Biochem. Z. **316**, 166 (1944). — OPPENHEIMER, C.: Die Fermente und ihre Wirkungen. Suppl.-Bd. II. Den Haag 1939. — PAECH, K.: Ursache und Verlauf des Alterns bei Pflanzen. I. Z. Altersforsch. **2**, 183 (1940a). — Veränderungen des Plasmas während des Alterns pflanzlicher Zellen. Planta (Berl.) **31**, 295 (1940b). — PEARSALL, W. H., and M. C. BILLIMORIA: Effects of age and season upon protein synthesis in detached leaves. Ann. Bot., N. s. **2**, 317 (1938). — PEKAREK, J.: Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der BROWNschen Molekularbewegung. IX. Protoplasma (D.) **34**, 177 (1939). — PHILIPPOFF, W.: Viskosität der Kolloide. Dresden u. Leipzig 1942. — PHILLIS, E., and T. G. MASON: Further studies on transport in the cotton plant. VI. Ann. Bot. **50**, 679 (1936). — POPE, M. N.: Catalase activity in relation to the growth curve in barley. J. agricult. Res. **44**, 343 (1932). Catalase activity and respiration in the growing leaves of barley. J. agricult. Res. **46**, 35 (1933). — RANJAN, S., and A. K. MALLIK: A study on the catalase reaction with special reference to respiration in plants. New Phytologist **30**, 355 (1931). — RANZI, S., P. CITTERIO and M. GIUDICI: Effects of Lithium cation and thiocyanate anion on the viscosity of solutions of proteins from eggs and embryos. Experientia (Basel) **4**, 112 (1948). — REUTER, L.: Protoplasmatik vergilbender Laubblätter. Protoplasma (D.) **27**, 270 (1937). — RICHARDS, F. J.: On the use of simultaneous observations on successive leaves for the study of physiological change in relation to leaf age. Ann. Bot. **48**, 497 (1934). — Physiological studies in plant nutrition. VIII. Ann. Bot., N. s. **2**, 491 (1938). — RIPPEL, A.: Zur Frage der Eiweißwanderung beim herbstlichen Vergilben der Laubblätter. Biol. Zbl. **41**, 508 (1921). — RISCHKOW, V. L., u. J. K. KARATSCHEWSKI: Chlorophyllmangel und Enzymwirkung. I. Beitr. Biol. Pflanz. **20**, 199 (1933). — RUBIN u. STRATSCHITZKI: Biochimija (Moskau) **1**, 343 (1936). Zit. nach T. BERSIN: Kurzes Lehrbuch der Enzymologie, 2. Aufl., S. 155. Leipzig 1939. — SABALITSCHKA, T., u. A. WIESE: Das Verhalten des Kalis vor und bei dem herbstlichen Absterben der Blätter von *Populus nigra* und *Hedera helix*. Z. Pflanzenern. A **7**, 166 (1926). — SAMPSON, A. W., and R. SAMISCH: Growth and seasonal changes in composition of oak leaves. Plant. Physiol. **10**, 738 (1935). — VAN DE SANDE-BAKHUYZEN, H. L.: Studies on wheat grown under constant conditions. Stanford Univ. Calif. 1937. — SATTLER, H.: Beiträge zur Kenntnis des N-Stoffwechsels wintergrüner Pflanzen. Planta (Berl.) **9**, 315 (1929). — SCHMALFUSS, K.: Das Kalium. Freising 1936. — SCHMIDT, H., K. DIWALD u. O. STOCKER: Plasmatische Untersuchungen an dürreempfindlichen und dürreresistenten Sorten landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Planta (Berl.) **31**, 292 (1938). — SCHORR, L.: Über bunte Vakuolensysteme. Protoplasma (D.) **31**, 599 (1940). — SCHUMACHER, W.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels panaschierter Pflanzen. Planta (Berl.) **5**, 161 (1928). — Über Eiweißumsetzungen in Blütenblättern. Jb. Bot. **75**, 581 (1932). — SHIBATA, M.: Studien über die Bildung organischer Säuren in grünen Pflanzen. II. Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ., IV. s. **8**, 205 (1933). — SIMONIS, W.: CO_2-Assimilation und Stoffproduktion trocken gezogener Pflanzen. Planta (Berl.) **35**, 188 (1947). — SINGH, B. N., and K. N. LAL: Investigation of the effect of age on assimilation of leaves. Ann. Bot. **49**, 291 (1935). — SMALL, J.: Hydrogen-ion concentration in plant cells and tissues. Berlin 1929. — SMIRNOW, A. I.: Über die biochemischen Eigentümlichkeiten des Alterns der Laubblätter. Planta (Berl.) **6**, 687 (1928). — SPANING, M.: Die Assimilation einiger Frühjahrs- und Sommerpflanzen im Verlaufe ihrer Vegetationsperiode. Jb. Bot. **89**, 574 (1941). — SPEK, J.: Das p_H in der lebenden Zelle. Kolloid-Z. **85**, 162

(1938). — STÅLFELT, G.: The influence of light upon the viscosity of protoplasm. Ark. Bot. (Schwed.) **33** A, 4 (1948). — STRUGGER, S.: Beiträge zur Physiologie des Wachstums. I. Jb. Bot. **79**, 406 (1934). — SWART, N. T.: Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern. Diss. Jena 1914. — TAKAMINE, N.: On the plasmolysis form in *Allium cepa* with special reference to the influence of potassium ion upon it. Cytologia (Jap.) **10**, 302 (1940). — THEORELL, H.: Über die Wirkungsweise der Katalasen. Experientia (Basel) **4**, 100 (1948). — WEBER, F.: Plasmolysezeit und Lichtwirkung. Protoplasma (D.) **7**, 256 (1929). — Harnstoffpermeabilität ungleich alter *Spirogyra*zellen. Protoplasma (D.) **12**, 129 (1931). — WEILING, J. F.: Über Geschlechtsunterschiede in der Assimilation und Transpiration bei einigen zweihäusigen höheren Pflanzen. Jb. Bot. **89**, 157 (1941). — WHITE, H. L.: The interaction of factors in the growth of *Lemna*. VII. Ann. Bot. **50**, 175 (1936). — WILLSTÄTTER, R., u. A. STOLL: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918. — YEMM, E. W.: The respiration of barley plants. II. Proc. roy. Soc., Lond. B **117**, 504 (1935). — The respiration of barley plants. III. Proc. roy. Soc. Lond. B **123**, 243 (1937).

Dr. H. FISCHER, (22c) Bonn, Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 37, S. 293—298 (1949).

Kurze Mitteilung.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Kiel.

ZUR POLYPLOIDIE UND GENETIK DER VERONICA-GRUPPE PENTASEPALA.

Von

HANS SCHEERER.

(Eingegangen am 23. Februar 1949.)

Die zur Sektion *Chamaedrys* gehörige Gruppe *Pentasepala* der Gattung *Veronica* genießt aus systematischen Gründen besonderes Interesse. Während alle übrigen Gruppen dieser artenreichen Gattung durchweg im Normalfall 4 Kelchzipfel besitzen, zeichnet sich diese gemäß ihrem Namen durch den Besitz von 5 Kelchzipfeln aus, womit sie ihren ursprünglichen Charakter innerhalb der Gattung beweist. Sie umfaßt die 3 Arten *V. prostrata* L., *V. austriaca* L. und *V. Teucrium* L. Da diese Arten in sich stark variieren und durch Zwischenformen miteinander verbunden sind, ist eine systematische Gliederung nicht leicht durchzuführen. Der Versuch wurde 1910 von WATZL unternommen, wobei es zur Aufstellung zahlreicher Unterarten, Varietäten und Formen kam. Eine Übersicht darüber findet sich außer bei WATZL in einer früheren Arbeit des Verfassers (SCHEERER 1937, S. 292).

Diese Polymorphie der Gruppe lockte zu einer zytogenetischen Bearbeitung, die Verfasser 1934 im Rahmen der *Veronica*-Untersuchungen des Tübinger Botanischen Instituts begann. In der oben zitierten Arbeit des Verfassers wurde unter anderem über die Kreuzungsmöglichkeiten und die Chromosomenverhältnisse der Arten und einiger Unterarten berichtet. Das Ergebnis war insofern überraschend, als sich die vielfach vermuteten spontanen Bastarde im Experiment nur in sehr geringem Umfang erzeugen ließen. Der Grund für die beschränkten Kreuzungsmöglichkeiten liegt in dem Vorhandensein verschiedener Chromosomenzahlen, denn die Gruppe stellt eine polyploide Reihe von 8, 16, 24 und 32 Chromosomen dar. Normale Bastardierungen waren dabei im allgemeinen nur bei gleichchromosomigen Partnern möglich. Es ergaben sich folgende Chromosomenzahlen: *V. prostrata* $n = 8$ und $n = 16$, *V. austriaca ssp. orbiculata* $n = 16$, *V. austriaca ssp. dentata* $n = 24$, *V. austriaca ssp. Jacquini* $n = 24$, *V. Teucrium ssp. pseudochamaedrys* $n = 32$.

Nach seiner Übersiedlung nach Kiel im Sommer 1938 ging Verfasser an die Aufzucht und Analyse der in Tübingen erhaltenen Bastarde. Diese Arbeit erfuhr durch den Kriegsausbruch ein schnelles

Ende. Verfasser war während des ganzen Krieges Soldat und konnte sich während dieser Zeit und der anschließenden Gefangenschaft nicht mehr um seine Kulturen kümmern. So blieb die Arbeit leider in ihren Anfängen stecken. Doch seien die bis Herbst 1939 vorliegenden Ergebnisse sowie das Verhalten der Kultur in der Folgezeit kurz mitgeteilt.

A. Die verschiedene Widerstandskraft der Arten von verschiedenem Polyploidiegrad.

Die etwa 400 Versuchspflanzen befanden sich in eingesenkten Töpfen im Botanischen Garten der Universität Kiel. Sie standen alle zusammen im Freien und befanden sich unter völlig gleichen edaphischen und lokalklimatischen Bedingungen. Außer regelmäßiger Begießung durch das Gartenpersonal waren die Pflanzen ohne Betreuung. So konnte eine ± starke Verunkrautung der Töpfe nicht ausbleiben. In begrenztem Maße hatte sich der *Veronica*-Bestand auch durch Aussamung selbst verändert. Diese Umstände brachten es mit sich, daß die Pflanzen einem schweren Konkurrenzkampf sowohl unter sich selbst wie mit Unkräutern ausgesetzt waren. In diesem Kampf erwiesen sich die höher Polyploiden gegenüber den Diploiden bzw. niedriger Polyploiden eindeutig überlegen. Machte die 8-chromosomige *V. prostrata* schon während der Zeit der beaufsichtigten Kultur ziemliche Schwierigkeiten, so war sie, wie Verfasser während eines kurzen Besuchs im Jahre 1941 feststellen konnte, um diese Zeit bereits mit sämtlichen Exemplaren eingegangen. Als stark dezimiert erwiesen sich auch die 16-chromosomige *V. prostrata* und die ebenfalls 16-chromosomige *V. austriaca ssp. orbiculata*. Bei einem weiteren Besuch der Kultur im Jahr 1943 waren die 16-chromosomigen Stammarten ebenfalls verschwunden, während sich allerdings die ebenfalls 16-chromosomigen Bastarde der beiden genannten Arten noch relativ gut gehalten hatten. Die 6x-Pflanzen *V. austriaca ssp. dentata* und *ssp. Jacquini* standen besser, doch waren auch hier einige Ausfälle zu verzeichnen. Am besten hatte sich die 8x-Art *V. Teucrium* gehalten. Ihre Vertreter waren noch vollzählig vorhanden. Bei der Wiederaufnahme seiner wissenschaftlichen Tätigkeit im Herbst 1948 fand Verfasser immer noch Reste seiner Kultur vor; die Töpfe befanden sich noch an derselben Stelle und waren weiterhin sich selbst überlassen geblieben. Bei der kaum noch definierbaren Etikettierung und den eventuellen Aussamungen war eine Identifizierung der noch vorhandenen Pflanzen im vegetativen Zustand kaum möglich. Sicher ist jedoch, daß außer einigen etwaigen Bastarden zwischen den 4x-Arten nur noch hochchromosomige (6x und 8x) Pflanzen vorhanden sind. Eine genaue Untersuchung der Restpflanzen auf ihre Artzugehörigkeit wird erst während der nächsten Blühperiode möglich sein.

Bei den ungewöhnlichen Umständen (unter anderem dem Verlust aller Protokolle) sind quantitative Angaben über die Anzahl der jeweils beteiligten Exemplare der einzelnen Arten sowie über die Zeiten des jeweiligen Absterbens leider nicht möglich. Aber auch in der vorliegenden Form stellt dieses unbeabsichtigte Experiment einer sich selbst überlassenen Population einander sehr nahe verwandter und in ihren ökologischen Ansprüchen sehr ähnlichen Arten — sie sind alle xerotherm —, deren Hauptunterschiede nur in ihren Polyploidiestufen liegen, doch eine interessante Bestätigung der HAGERUP-TISCHLERschen Regel von der Überlegenheit der Höherpolyploiden über die Niedrigerpolyploiden bzw. Diploiden dar (HAGERUP 1931, TISCHLER 1934).

B. Bastarde zwischen Eltern gleicher Chromosomenzahl.

Wie bereits 1937 mitgeteilt, lieferte die Artkreuzung *T. prostrata* (4x) × *V. austriaca ssp. orbiculata* (4x) hinsichtlich Zahl und Form normale Samen. Nach ebenfalls normalem Keimverlauf erwiesen sich die F_1-Pflanzen einheitlich ± intermediär. Eine eingehende Faktorenanalyse war auch hier in Anbetracht der Umstände nicht möglich. Es konnte lediglich noch Fertilität der Pflanzen bei spontaner Bestäubung festgestellt werden.

Dasselbe gilt auch für die aus der Kreuzung der hexaploiden Unterarten *V. austriaca ssp. dentata* × *ssp. Jacquini* hervorgegangenen Bastarde.

Es dürfte feststehen, daß sich die Eltern — ob Arten oder Unterarten — nur wie mendelnde Rassen verhalten. Entsprechende Ergebnisse wurden auch in anderen Sektionen der Gattung gefunden. So erwiesen sich z. B. die von BEATUS (1936, S. 171) untersuchten Arten *V. fruticans* und *V. fruticulosa* der Sektion *Veronicastrum* ihrem genetischen Wert nach ebenfalls nur als Mendelrassen. Entsprechendes dürfte auch für die gleichchromosomigen Arten innerhalb der Sektion *Pseudolysimachia* gelten (GRAZE 1932). Die nahe Verwandtschaft der Genome von *V. prostrata* (4x) und *V. austriaca ssp. orbiculata* läßt vermuten, daß innerhalb der ganzen Gruppe nahe genomatische Beziehungen bestehen.

C. Numerische Bastarde.

Größeres Interesse dürfen die Bastarde zwischen Eltern verschiedener Chromosomenzahlen für sich in Anspruch nehmen. Aus den Bestäubungen zwischen den 6x-Pflanzen (*V. austriaca ssp. dentata* und *ssp. Jacquini*) mit 8x-Pflanzen (*V. Teucrium ssp. pseudochamaedrys*) wurden zahlreiche Samen erhalten, die — obwohl oft mißgestaltet — im allgemeinen gut keimten. Die F_1 erwies sich dabei ebenfalls als ± intermediär und bei spontaner Bestäubung als fertil. Ihre Chromosomenzahl konnte 1939 noch ermittelt werden; sie erwies sich erwartungs-

gemäß als $7x = 56$. Möglicherweise befinden sich unter den Restbeständen der Kultur noch einzelne Vertreter dieser Kombination, die gegebenenfalls untersucht werden sollen.

Aus der Kreuzung *V. prostrata* (4x) × *V. Teucrium* (8x) wurden aus zahlreichen Bestäubungen nur 4 Samen erhalten, die alle keimten. Die chromosomale Untersuchung ergab die erwartete Zahl $2x + 4x = 6x$, d. h. $2n = 48$. Auch diese Pflanzen erwiesen sich bei spontaner Bestäubung als fertil. Leider ist nichts mehr von ihnen vorhanden, so daß auch hier eine weitere Analyse dieser Bastarde unmöglich ist. Die Frage, warum es einigen Gonen in seltenen Ausnahmefällen möglich ist, zu kopulieren, ist bis jetzt noch ungelöst. Ist dieses Ergebnis auch sehr fragmentarisch, so gibt die experimentelle Erzeugung hexaploider fertiler Pflanzen durch Kreuzung Tetraploider mit Octoploiden doch einen wichtigen Hinweis auf die Entstehung der hexaploiden Unterarten der *V. austriaca*. Es kann als gesichert gelten, daß *V. austriaca ssp. dentata* (6x) durch Kreuzung von *V. Teucrium* (8x) mit *V. prostrata* (4x) entstanden ist. Dafür spricht die morphologische Ähnlichkeit dieser 3 Arten an sich schon. Ist es doch oft kaum möglich, die in der Natur vorkommenden Typen dieses Formenkreises mit Sicherheit einer der 3 Arten zuzuordnen. Diese Auffassung über die Entstehung der *V. austriaca ssp. dentata* wird weiterhin gestützt durch die Tatsache, daß auch die Areale der *V. prostrata* (4x) und der *V. Teucrium* (8x) sich überdecken und auch die Standortsansprüche ungefähr die gleichen sind. So kommen z. B. im Donaugebiet der Schwäbischen Alb beide Arten in unmittelbarer Nachbarschaft vor, wobei allerdings *V. prostrata* im Vergleich zu *V. Teucrium* extremer xerotherme Lagen bevorzugt bzw. erträgt. Wieweit allerdings die *ssp. dentata* von Osten her noch die Schwäbische Alb besiedelt, ist bis jetzt noch nicht genau bekannt. Im Nördlinger Ries kommt sie vor, und vielleicht ist sie auch noch im Blautal westlich Ulm vorhanden. Ihr Verbreitungszentrum ist jedoch das pannonische Gebiet, so daß wir dort wahrscheinlich auch ihr Entstehungsgebiet vermuten müssen.

Fragen wir nun noch nach der mutmaßlichen Entstehung der *ssp. Jacquini*, so kommen wir unter Berücksichtigung des oben mitgeteilten genetischen Verhaltens zwischen *ssp. dentata* und *ssp. Jacquini* zu dem Schluß, daß die *ssp. Jacquini* eine schlitzblättrige Mutante der *ssp. dentata* darstellt (vgl. die Abbildungen bei SCHEERER 1937, S. 218ff.

Die Kreuzung *V. austriaca ssp. dentata* (6x) × *V. prostrata* (2x) lieferte aus 152 bestäubten Blüten nur 2 Samen, die durch ihre ungewöhnliche Größe auffielen. Nach der Aussaat ging die eine Keimpflanze ein, während die andere großgezogen werden konnte. Obgleich sie nicht den überaus hochschlanken Wuchs der Mutter erreichte, zeigte sie im ganzen doch mehr mütterliche Charaktere. Die chromo-

somalen Verhältnisse dieses Bastardes ließen die Zahl $3x + x = 4x$, also $2n = 32$ erwarten, doch ergab sich durch eindeutige Zählungen an Wurzelspitzenmitosen die Zahl $7x = 56$. Es war somit eine diploide Eizelle von $6x = 48$ mit einem normalen Pollenkorn von $x = 8$ zur Befruchtung gelangt. Es können also 7x-Pflanzen sowohl durch Befruchtung von 3x mit 4x-Gameten wie auch durch Verschmelzung unreduzierter 6 -Eizellen mit x-Pollen entstehen, wobei letztere Verbindung allerdings nur als seltener Ausnahmefall auftritt. Leider war es auch hier wiederum infolge Verlustes des Materials nicht möglich, diese 7x-Pflanzen zytogenetisch weiter zu untersuchen. Heptaploide Pflanzen sind bis jetzt innerhalb der pentasepalen *Veronicae* aus der Natur nicht bekannt. Es ist auch kaum anzunehmen, daß sie sich in der weiteren Generationenfolge als solche erhalten, wahrscheinlicher ist eine Zurückregulierung zu geradzahliger Polyploidie.

Das Auftreten diploider befruchtungsfähiger Gonen kann heute nicht mehr als Seltenheit bezeichnet werden. Die in der Literatur bekannten Fälle haben sich im Lauf der Jahre gehäuft. Auch bei *Veronica* sind diploide Eizellen durch die Untersuchungen von Graze (1932, S. 550) in der Sektion *Pseudolysimachia* nachgewiesen; sie ermöglichten hier in Ausnahmefällen die Kreuzung diploider mit tetraploiden Arten, wobei tetraploide Bastarde entstanden. Diese Verbindung unreduzierter Eizellen mit normalen Pollenkörnern einer tetraploiden Vaterpflanze zu einem fertilen tetraploiden Bastard stellt den häufigsten Typus der Erzeugung allopolyploider Kombinationen unter Beteiligung unreduzierter Gonen dar. Die Befruchtung einer unreduzierten 6x-Eizelle mit einem x-Pollenkorn zu einer 7x-Pflanze ist jedoch selten. In Darlingtons Zusammenstellung (1937, S. 191) ist dieser Fall nur einmal aufgeführt, und zwar bei der Entstehung der heptaploiden *Rubus*-Hybride „*Laxtonberry*“ ($7x = 49$), die aus der Befruchtung einer unreduzierten Eizelle der hexaploiden „*Loganberry*“ ($6x = 42$) mit einem normalen Pollenkorn von *Rubus idaeus* ($x = 7$) ihren Ursprung nahm (Crane und Darlington 1927, S. 259ff.).

Die Ergebnisse dieser numerischen Bastardierungen ergeben eine weitere Stütze für die Auffassung, daß es sich bei den pentasepalen *Veronicae* um eine junge polyploide Reihe handelt, bei der die einzelnen Achtersätze noch einen relativ hohen Verwandtschaftsgrad besitzen und sich in verschiedener Weise miteinander kombinieren lassen.

Zusammenfassung.

1. In einer durch die Kriegsumstände sich selbst überlassenen Kultur von *Veronica*-Arten verschiedener Polyploidiestufen erwiesen sich die höher Polyploiden gegenüber den Diploiden bzw. niedriger Polyploiden im Konkurrenzkampf überlegen.

2. Die gleichchromosomigen Arten und Unterarten der Gruppe sind genetisch gesehen wahrscheinlich nur mendelnde Rassen.

3. Positiv ausgefallene Kreuzungen zwischen 4x- und 8x-Arten sprechen dafür, daß auch die in der Natur vorkommenden hexaploiden Unterarten der *V. austriaca* durch Kreuzung zwischen der tetraploiden *V. prostrata* und der octoploiden *V. Teucrium* hervorgegangen sind.

4. 7x-Pflanzen konnten sowohl durch Kreuzung von 6x- mit 8x-Arten wie auch durch anormale Befruchtung unreduzierter 6x-Eizellen mit x-Pollen erhalten werden.

Literatur.

Beatus, R.: Genetische und zytologische Untersuchungen in der *Veronica*-Gruppe *Fruticulosa* der Sektion *Veronicastrum*. Flora (Jena) **130**, 153 (1936). — Crane, M. B., and C. D. Darlington: The origin of new forms in *Rubus*. Genetica (Nd.) **9**, 241 (1927). — Darlington, C. D.: Recent advances in cytology. London 1937. — Graze, H.: Die chromosomalen Verhältnisse in der Sektion *Pseudolysimachia* Koch der Gattung *Veronica*. Jb. wiss. Bot. **77**, 507 (1932). — Hagerup, O.: Über Polyploidie in Beziehung zu Klima, Ökologie und Phylogenie. Hereditas (Schwd.) **16**, 19 (1931). — Scheerer, H.: Experimentelle und zytologische Untersuchungen innerhalb der *Veronica*-Gruppe *Pentasepala*. Flora (Jena) **131**, 287 (1937). — Tischler, G.: Die Bedeutung der Polyploidie für die Verbreitung der Angiospermen. Bot. Jb. **67**, 1 (1934). — Watzl, B.: *Veronica prostrata* L., *Teucrium* L. und *austriaca* L. Abh. zool. bot. Ges. **5**, 5 (1910).

Dr. Hans Scheerer, (24b) Kiel, Hegewischstr. 3, Botan. Institut.

Aufnahmebedingungen.

I. Sachliche Anforderungen.

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen.

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. **Die Abbildungsvorlagen sind getrennt vom Text und die Unterschriften auf besonderem Blatt einzuliefern.** Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und sprachlich gut geschrieben sein. Überflüssige Fremdworte sind zu vermeiden. Verfassernamen sind mit großen Buchstaben zu schreiben oder gerade zu unterstreichen, lateinische Pflanzen- und Tiernamen sind gewellt zu unterstreichen. *Literaturhinweise* sind nicht durch Anmerkungen unter dem Text, sondern in diesem mit dem Namen des Verfassers, der Nummer der Arbeit im Literaturverzeichnis oder der Jahreszahl des Erscheinens und der Seitenzahl anzuführen (also z. B. MUELLER 1931, S. 608). Am Schluß der Arbeit sind die angeführten Veröffentlichungen in einem Literaturverzeichnis alphabetisch nach Verfassernamen geordnet, zusammenzustellen, wobei Zeitschriftenaufsätze mit Titel, Angabe von Band, Jahreszahl und Seite, Bücher mit Titel, Verlagsort und Jahreszahl anzuführen sind. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Ergebnisse gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden[1].

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Kurze, aber erschöpfende Figurenunterschrift erübrigt nochmalige Beschreibung im Text. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle *und* Kurve. *Farbige* Bilder können nur in seltenen Ausnahmefällen Aufnahme finden, auch wenn sie wichtig sind. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

7. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

8. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen zwecks Erweckung des Anscheins größerer Kürze ist unzulässig.

9. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Verfasser in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

10. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

---

[1] Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

Soeben erschien in zweiter Auflage:

Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze

Von

Dr. **Siegfried Strugger**
o. Professor für Botanik an der Universität Münster

(Pflanzenphysiologische Praktika, Band II)

Zweite Auflage
Mit 148 Textabbildungen. VIII, 225 Seiten. 1949
DMark 24.—; Ganzleinen DMark 27.60

Seit dem Erscheinen der ersten Auflage sind 13 Jahre vergangen. In dieser Zeit hat sich die Physiologie der Pflanzenzelle durch die unermüdliche Arbeit zahlreicher Forscher ein gutes Stück weiter entwickelt. Es war daher notwendig, das Buch völlig neu zu disponieren und viele Versuche neu aufzunehmen. Verfasser war bestrebt, die Auswahl der Experimente so zu gestalten, daß sie mit einfachen behelfsmäßigen Mitteln zum größten Teil durchgeführt werden können.

Inhaltsübersicht:

Einleitung. Die Präparation lebender Pflanzenzellen und Gewebe: Zellen im natürlichen Medium. Zellen im künstlichen Medium. — Die mikroskopische Untersuchung lebender Pflanzenzellen und Gewebe: Die Hellfeldanalyse. Die Dunkelfeldanalyse. Die fluoreszenzmikroskopische Analyse. Das Phasenkontrastverfahren. — Einführung in die Zytomorphologie und experimentelle Zytologie: Lebende und tote Zellen, Zytoplasma. Der Zellkern. Die Chloroplasten. Das Vakuolensystem. — Der plasmolytische Eingriff und seine methodische Auswertung. Morphologie der Plasmolyse. Die quantitative Auswertung der Plasmolyse. — Stoffaufnahme: Intrabilität, Ionenwirkung, Grenzschichten. Die Permeabilität. Der optische Nachweis der Stoffaufnahme. Die Vitalfärbung. — Elektrozytologie und Elektrohistologie. — Der Stofftransport: Die Stoffwanderung von Zelle zu Zelle. Die Stoffwanderung in den Leitbahnen. Faszikulärer und extrafaszikulärer Transpirationsstrom. Die Stoffwanderung in den Siebröhren. Alphabetisches Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin • Göttingen • Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.